

Article original / Original Article

Étude microscopique (optique et MEB) des dépôts de fluide de putréfaction (PFD) solidifié chez des sujets anciens. Intérêt potentiel en anthropologie médico-légale

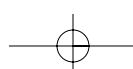
P. CHARLIER^{1,2}, P. GEORGES³, F. BOUCHET⁴, I. HUYNH⁵,
 V. MAZEL⁶, P. RICHARDIN⁶, L. BRUN⁷, J. POUPON⁸, R. CARLIER⁹,
 J. BLONDIAUX¹⁰, G. LORIN DE LA GRANDMAISON¹

RÉSUMÉ

Cet article décrit l'intérêt potentiel en anthropologie médico-légale de l'étude microscopique du fluide de putréfaction, sous sa forme précipitée solidifiée et calcifiée dans les zones déclives des restes osseux. Les modalités de prélèvement et d'étude apparaissent relativement aisées et reproductibles.

Les échantillons proviennent de matériels archéologiques (site de Monterenzio Vecchia, une nécropole étrusco-celtique d'Italie du Nord datée du 5^e au 3^e siècles av. J.-C. ; restes d'Agnès Sorel, maîtresse officielle du roi de France Charles VII morte en 1450 ; crâne et sarcophage du roi de France Louis XI et de sa seconde épouse Charlotte de Savoie, tous deux décédés en 1483).

1. Service de Médecine Légale, Pavillon Vésale, Hôpital Universitaire Raymond Poincaré (AP-HP, UVSQ), 104, boulevard Raymond Poincaré, 92380 GARCHES (France).
2. HALMA-IPEL (UMR 8164, CNRS), Université de Lille 3, VILLENEUVE-D'ASCQ (France).
3. INRAP, SAINT-ORANS-DE-GAMEVILLE (France).
4. Laboratoire de Paléoparasitologie, Faculté de Pharmacie, REIMS (France).
5. Service de Radiodiagnostic, CHU La Pitié Salpêtrière (AP-HP), boulevard de l'hôpital, 75013 PARIS (France).
6. C2RMF, Musée du Louvre, porte des Lions, quai François Mitterrand, PARIS (France).
7. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Hôpital Universitaire, PARAKOU (Bénin).
8. Service de Toxicologie Biologique, CHU Lariboisière, 2 rue Ambroise Paré, 75010 PARIS (France).
9. Service de Radiologie, Hôpital Universitaire Raymond Poincaré (AP-HP, UVSQ), 104 boulevard Raymond Poincaré, 92380 GARCHES (France).
10. CEPN, WALINCOURT-SELVIGNY (France).



Tous les échantillons ont été étudiés au microscope optique (MO) ou électronique à balayage (MEB). De nombreuses observations cytologiques, histologiques et élémentaires ont pu être réalisées, fournissant des informations importantes sur les circonstances exactes du décès de ces individus.

Mots-clés : Putréfaction, Décomposition, Anthropologie médico-légale, Microscopie, MEB, Paléopathologie, Archéologie.

SUMMARY

Microscopic Examination of Putrefaction Fluid Deposits (PFD) in Archaeological Material. Potential Interest in Forensic Anthropology

This article describes the potential interest in forensic anthropology of the microscopic study of putrefaction fluid deposits (PFD). The methods of sampling and examination appear relatively easy and reproducible. The studied samples come from archaeological materials (site of Monterenzio Vecchia, an Etrusco-Celtic necropolis of North Italy dated from 5th to 3rd c. B.C.; remains of Agnes Sorel, official mistress of the French King Charles VII, died in 1450; skull and sarcophagus of French King Louis XI and his second wife Charlotte of Savoy, both deceased in 1483).

All the samples were studied with optical microscope (OM) or scanning electronics microscope (SEM). Many cytological, histological and elementary observations could be made, providing important information on the exact circumstances of the death of these individuals.

Key-words: Putrefaction, Decomposition, Forensic anthropology, Microscopy, SEM, Paleopathology, Archaeology.

INTRODUCTION

Après le décès, l'ensemble du cadavre est soumis à des modifications en rapport avec la décomposition [15, 11]. La putréfaction, habituellement, aboutit ainsi à une liquéfaction des tissus humains et à la formation de dépôts de fluide de putréfaction (PFD pour Putrefaction Fluid Deposit). Ce fluide, qui se mélange progressivement aux transsudats sanguins, est initialement présent dans les cavités ou régions anatomiques (thorax, abdomen, crâne, membres) ; secondairement, il s'épanche autour du cadavre dès lors que se perfore la barrière cutanée. Visqueux, rougeâtre et graisseux, le

fluide de putréfaction est constitué de débris cellulaires plus ou moins altérés et accompagné d'acides gras. Son pH est acide (d'après notre expérience dans le Service de Médecine Légale de l'Hôpital Universitaire de Garches, fondée sur 10 cas modernes, avec des valeurs comprises entre 5 et 6). Ce fluide « baigne » littéralement le cadavre en décomposition, puis le squelette. Il se dépose ensuite, dans une phase de résorption et/ou d'évaporation, dans les zones déclives du squelette, qui réalisent de véritables pièges anatomiques : la zone de prédilection est la partie postéro-basale de l'occipital (Figure 1), pour un sujet en décubitus dorsal (parfois en territoire pariéto-occipital ou temporo-occipital lorsque le crâne a roulé sur le côté, notamment en

Figure 1 : Vue macroscopique d'un dépôt calcifié de liquide de décomposition au niveau de l'endocrâne du même sujet : MV 12 (cliché P. Charlier) ; à noter la présence de granulations de Paccioni au contact.



cas de présence d'un coussin sous la tête, lorsque cède l'articulation crâno-rachidienne) [2, 3, 8-10, 13, 14, 16-23].

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Il est possible de soumettre des échantillons de liquide de décomposition à une analyse microscopique électronique à balayage afin de chercher à identifier des fragments tissulaires ou, au moins, cellulaires, au sein de cette substance. À l'examen morphologique direct peut être couplée une analyse élémentaire de surface en semi-vide (MEB environnemental), permettant des études biochimiques et cristallographiques ultérieures.

Les fragments centimétriques de liquide de décomposition sédimenté sont généralement prélevés avec un minimum de contamination directement dans la boîte crânienne (au niveau de l'endocrâne). Ils sont nettoyés par un grattage fin à la loupe binoculaire et une vaporisation délicate d'air sous pression.

Afin de montrer l'intérêt d'une telle étude, nous présentons les résultats de l'examen d'échantillons provenant de trois tombes étrusco-celtiques (MV 15, MV 25 et MV 26 : Monterenzio Vecchia, près de Bologne, Italie, 5^e au 3^e s. av. J.-C.). Ils ont été examinés au microscope électronique à balayage Philips XL30 CP, dans les locaux du C2RMF (Musée du Louvre).

Une étude au microscope optique classique a également été réalisée sur d'autres échantillons : liquide de décomposition provenant de l'urne funéraire d'Agnès Sorel (inhumée dans la collégiale Saint-Ours de Loches, Indre-et-Loire, en 1450), liquide de décomposition récupéré sur les flancs intérieurs du sarcophage de Louis XI (inhumé dans la basilique Notre-Dame à Cléry-Saint-André, Loiret, en 1483), liquide de décomposition solidifié à la surface de l'endocrâne de Charlotte de Savoie (2^e épouse de Louis XI, enterrée à ses côtés en 1483).

Protocole d'étude au microscope optique

La 1^{re} étape consiste en une **réduction** en poussière du fragment à analyser, qui permettra une meilleure pénétration du fixateur.

Pour **réhydrater** et **fixer** les échantillons, ceux-ci ont été immersés dans de l'acide acétique dilué à 20 %. En effet, l'acide acétique permet de décalcifier lentement les fragments de liquide de décomposition solidifié, ce qui sera nécessaire pour poursuivre les étapes jusqu'à la coupe du fragment au microtome. On obtient ainsi une solution comprenant deux phases : une phase liquide comprenant du liquide de décomposition en suspension et une phase solide déclive. Ces deux phases seront étudiées séparément.

L'**analyse cytologique du liquide de décomposition en suspension** débute avec le prélèvement de 200 µL du surnageant. Ce liquide est alors centrifugé à 800 tours par minute pendant 10 min afin d'obtenir deux spots par lame Superfrost®. Au total, quatre lames sont réalisées par échantillon : 2 lames sont colorées par la technique de Papanicolaou après une fixation des spots à l'aide d'une laque. Les 2 autres lames sont colorées par la technique du MGG (May-Grünwald-Giemsa) après fixation des spots à l'air.

L'**étude de la phase solide restante (culot de centrifugation)** se fait après nouvelle centrifugation à 3 500 tours par minute pendant 10 min. Le surnageant a été gardé en réserve (pour étude cytologique éventuelle ultérieure) tandis que le culot a été pipeté puis remis à fixer 24 h dans l'AFA (Acide acétique, formol, alcool). Ainsi, le prélèvement poursuit sa décalcification, ce qui facilite d'autant la coupe suivant l'inclusion. Après cette durée de fixation, le culot a été mis en cassette sur une mousse, puis a suivi le circuit classique d'inclusion (déshydratation dans des bains d'alcool croissants puis en xylène, inclusion en paraffine liquide, refroidissement, coupe au microtome (de 6 à

10 µm), dépôt sur lame Superfrost© albuminée, séchage à l'air libre, déparaffinage et réhydratation par immersion dans le xylène puis dans des bains d'alcools décroissants jusqu'à l'eau distillée). Plusieurs colorations ont été réalisées pour chaque échantillon : PAS (Periodic Acid Schiff), Gram, Bleu de toluidine et HES (hématoxyline, éosine, safran).

RÉSULTATS

Monterenzio Vecchia 15 (MV 15)

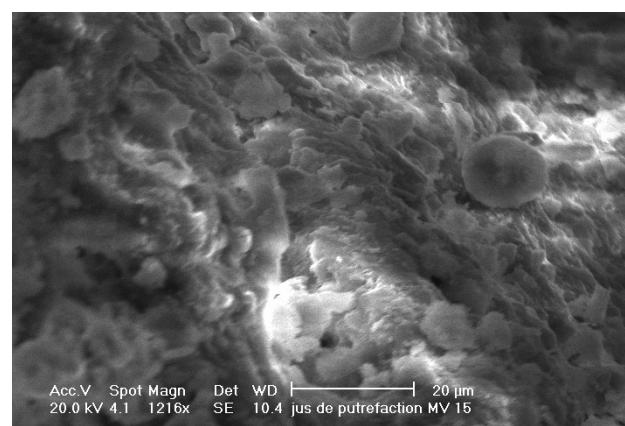
Deux fragments de 5 et 7 mm de grand axe ont été étudiés successivement. L'examen microscopique a mis en évidence, au niveau des faces de fracture, plusieurs formations circulaires biconcaves mesurant de 7 à 10 µm, correspondant très probablement à des hématies (Figure 2). Quelques structures cristallines, en surface, correspondaient à des contaminations *post-mortem*. L'organisation feuillettée du liquide de décomposition était apparente sur certaines zones de rupture, où jusqu'à 6 couches ont pu être identifiées, d'une épaisseur de 2 à 4 µm. L'ensemble du prélèvement présentait de très nombreuses cavités témoignant du caractère semi-liquide (et bulleux) du liquide de décomposition au moment de sa sédimentation et solification ; les cavités correspondant à des bulles de fermentation ou à des lacunes adipeuses.

De nombreux amas mycéliens ont pu être mis en évidence, la taille des mycéliums étant comprise entre 5 et 8 µm. Leur dépôt au sein du liquide de décomposition est probablement contemporain de l'autolyse cadavérique et de la contamination du corps par la faune et la flore thanatophages. Comme en témoigne l'analyse élémentaire, ils ont été l'objet d'une minéralisation plus ou moins complète : nette prédominance de 4 éléments (calcium, silicium et oxygène) et traces de carbone, d'aluminium, magnésium, potassium, phosphore, titane et fer.

Monterenzio Vecchia 25 (MV 25)

La surface du prélèvement a volontairement été incomplètement nettoyée afin de laisser apparaître les différences de composition et de structure entre la gangue de terre de comblement et le liquide de décomposition sédimenté lui-même. Cette gangue de terre a

Figure 2 : Hématies observées au sein du liquide de décomposition solidifié du sujet MV 15 (MEB, grossissement × 1 200, cliché V. Mazel, P. Richardin et P. Charlier).



un aspect motté irrégulier au sein duquel aucun structure organique n'est identifiable. De nombreux cristaux sont observés, de taille et de forme variables. Une analyse élémentaire a été réalisée sur plusieurs surfaces (Figure 3), montrant une importante richesse en silicium, oxygène et aluminium, correspondant selon toutes probabilités à un silicate d'alumine tellurique. La relative rareté du calcium et du magnésium au sein de l'échantillon est à noter. Des traces de carbone, sodium, magnésium, phosphore, soufre, chlore, potassium, calcium, titane et fer sont enfin retrouvées. Considérons ces rapports élémentaires comme ceux de la terre témoin.

Le liquide de décomposition présentait un aspect notablement différent, feuilletté, caractérisé par la présence de plusieurs couches successives superposées. Certaines structures ont pu être mises en évidence,

Figure 3 : Spectre élémentaire du liquide de décomposition solidifié du sujet MV 25 (cliché V. Mazel, P. Richardin et P. Charlier).

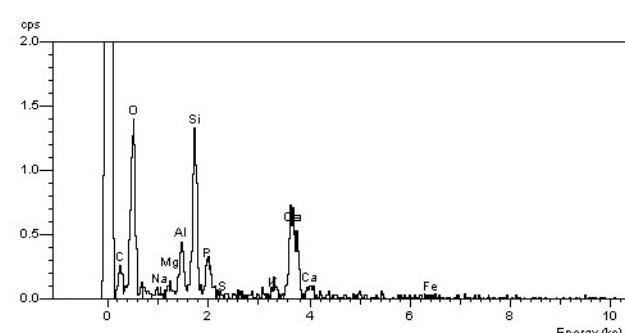
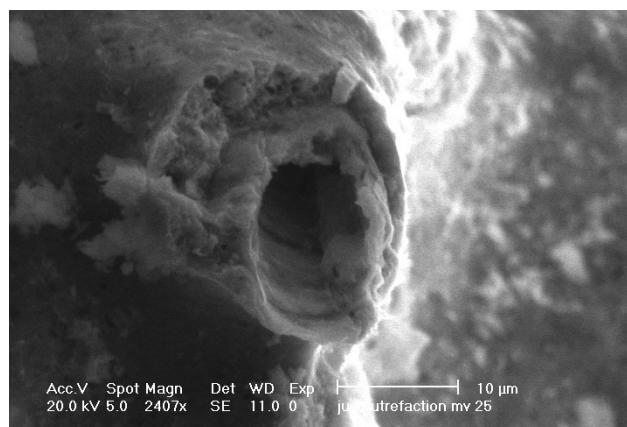


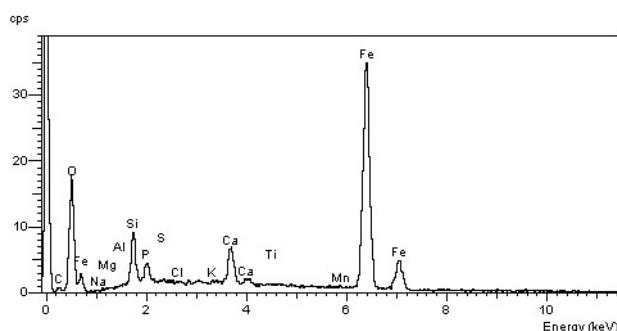
Figure 4 : Empreinte vasculaire observée dans le liquide de décomposition du sujet MV 25 (MEB, grossissement $\times 2400$, cliché V. Mazel, P. Richardin et P. Charlier).



notamment une formation cylindrique creuse de $15 \mu\text{m}$ de diamètre, dont l'aspect microscopique est compatible avec celui d'une paroi vasculaire capillaire (Figure 4). D'autre part, lors d'un examen à très fort grossissement (au moins $\times 2000$), il est apparu que la surface du liquide de décomposition présentait un aspect criblé, consécutif à la solidification du liquide de décomposition à l'état bulleux semi-liquide ; les cavités correspondant à des bulles de fermentation ou à des lacunes adipeuses, comme observé chez l'échantillon provenant de l'individu MV 15.

L'analyse élémentaire réalisée sur le liquide de décomposition a mis en évidence une richesse très nette en fer, associée à la présence de silice en très moindre quantité (contamination *post-mortem*) et à des traces de carbone, sodium, magnésium, aluminium, phosphore, soufre, chlore, potassium, calcium et titane (Figure 5).

Figure 5 : Spectre élémentaire du liquide de décomposition solidifié du sujet MV 25 (cliché V. Mazel, P. Richardin et P. Charlier).



Cette extraordinaire richesse en fer pose question : s'agit-il d'une contamination *post-mortem* (rouille provenant de l'oxydation à proximité d'un objet en métal) ? Cette concentration en fer est-elle secondaire à un processus hémorragique intracrânien ayant conduit à une accumulation de sang (donc de fer) secondairement sédimenté ?

L'étude du mobilier funéraire n'a révélé la présence d'aucun objet métallique, notamment en fer, dans la tombe du sujet MV 25. En revanche, l'étude paléopathologique a mis en évidence la présence d'une lésion ostéolytique frontale gauche para-sagittale de 1 cm de grand axe (Figures 6 et 7) interprétée comme un angiome ou, plus généralement, une malformation vasculaire ayant érodé, lors de son développement sur un os jeune et d'autant plus en raison de son caractère pul-

Figures 6 et 7 : Vue générale endocrânienne du frontal de l'individu MV 25 et détail de la zone d'ostéolyse en rapport avec une malformation artério-veineuse frontale gauche (clichés P. Charlier). Noter le dépôt de liquide de décomposition solidifié (PFD) juste au-dessus de la lésion.



satile, la voûte crânienne à son contact. Cette malformation aurait-elle pu constituer une poche sanguine responsable de cette concentration excessive de fer dans le liquide de décomposition solidifié ? Nous ne le pensons pas, le volume sanguin n'ayant probablement pas excédé 2 cm³ compte tenu de la taille de la lésion (avant rupture), cette valeur apparaît trop faible pour modifier d'autant les concentrations élémentaires du liquide de décomposition. En conséquence, compte tenu des lésions macroscopiques et des constatations élémentaires réalisées sur le liquide de décomposition sédimenté intracrânien, nous pouvons proposer, pour cet enfant d'âge estimé de 10 à 11 ans, l'hypothèse d'un décès par hémorragie méningée consécutive à la rupture de sa malformation vasculaire cérébro-méningée frontale gauche (avec véritable inondation intracrânienne).

Montenrenzio Vecchia 26 (MV 26)

Le prélèvement étudié mesurait près de 3 cm de grand axe et a été examiné au microscope sur toute sa surface. Une formation de 1 mm de long pour 0,6 mm de large, observable à la loupe binoculaire, d'aspect jaune parcheminé translucide, a notamment été cartographiée. Grossièrement plane, celle-ci avait une épaisseur très fine, de moins de 5 µm (Figure 8). Quelques protubérances étaient présentes sur la face visible, globuleuses, de 5 µm environ, correspondant à des noyaux cellulaires (Figure 9). Focalement, on distinguait des formations circulaires biconcaves de 7 à 8 µm de diamètre, correspondant à de rares hématies.

Figure 8 : Fragment de dure-mère présent dans le liquide de décomposition du sujet MV 26 (MEB, grossissement × 100, cliché V. Mazel, P. Richardin et P. Charlier).

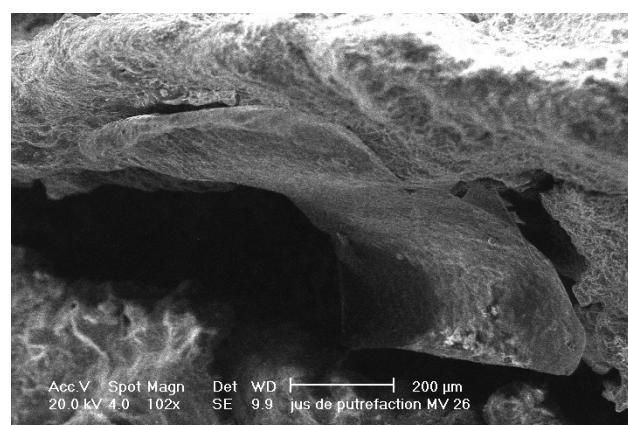
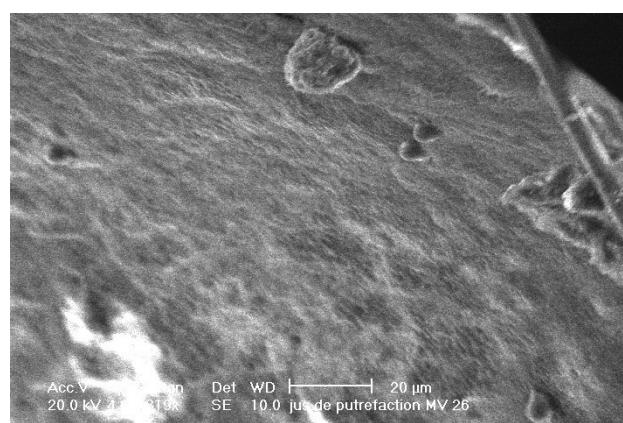


Figure 9 : Éléments cellulaires présents à la surface du lambeau de dure-mère dans le liquide de décomposition solidifié du sujet MV 26 (MEB, grossissement × 820, cliché V. Mazel, P. Richardin et P. Charlier).



Une analyse élémentaire a été réalisée sur cette formation d'allure tissulaire. Sa nature organique a été confirmée par l'importante richesse en carbone et oxygène. Des traces de cuivre, magnésium, aluminium, silicium, phosphore, soufre, chlore, potassium, calcium et chlore ont également été détectés. Autrement dit, ce fragment de parenchyme a été momifié au sein du liquide de décomposition et n'a quasiment pas été minéralisé. Son aspect morphologique et sa présence au sein de la boîte crânienne sont très évocateurs d'un diagnostic tissulaire de dure-mère, sans anomalie particulière.

L'analyse élémentaire des zones adjacentes et du reste de l'échantillon a permis de déterminer la composition globale du liquide de décomposition sédimenté de cet individu. On note une nette prédominance du silicium et de l'oxygène, des concentrations moyennes d'aluminium et de calcium, et des traces de carbone, cuivre, magnésium, phosphore, soufre, chlore, potassium et fer. La rareté du fer est importante à noter, confirmant la nature exceptionnellement riche en ce métal de l'échantillon provenant du sujet MV 25 (voir supra).

Agnès Sorel

Le cadavre d'Agnès Sorel a subi une préparation originale [4, 5] : décédée en février 1450 à Jumièges (Normandie) d'une intoxication aiguë en mercure au décours d'un traitement vermifuge dirigé contre des ascaris, elle fit l'objet d'un embaumement délicat. Le corps fut ouvert, puis le cœur et les entrailles ont été

Figure 10 : Détail du liquide de décomposition solidifié au contact du cercueil de plomb (loupe binoculaire, grossissement $\times 10$, cliché J. Poupon).



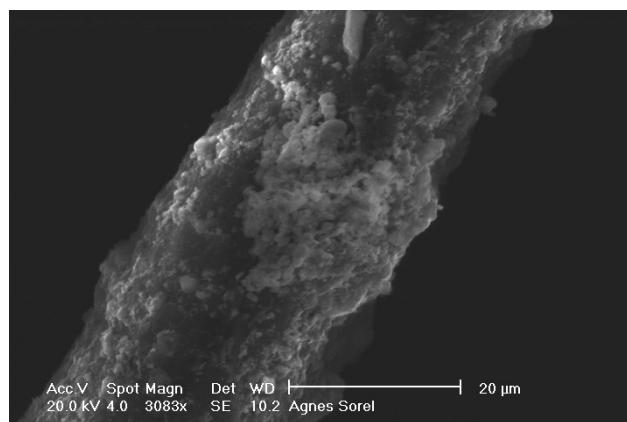
extraits et enterrés sur place ; les cavités abdominales et thoraciques ont alors été remplies d'épices et de matières végétales (poivre gris manigette d'Afrique de l'Ouest, rhizomes, graines et feuilles de mûrier blanc, etc.). Après un long transport jusqu'à Loches, le corps y fut inhumé dans un triple cercueil de plomb, de chêne et de cèdre.

Notre étude multidisciplinaire [6, 7] a montré que l'efficacité de l'embaumement n'a été que temporaire, le cadavre ayant commencé à se décomposer, avant que le liquide de décomposition, particulièrement acide, n'interagisse avec le plomb du sarcophage et ne forme un précipité d'oxyde de plomb qui, secondairement déposé sur les chairs d'Agnès Sorel, en bloque le processus d'autolyse. Ce ne furent donc pas des restes squelettiques que nous mêmes en évidence lors de l'ouverture de l'urne funéraire mais des segments corporels en grande partie momifiés.

Les amalgames de liquide de décomposition solidifié au contact de lambeaux du cercueil de plomb (Figure 10) ont donc été examinés au microscope optique et électronique à balayage (MEB) ; en parallèle, une analyse élémentaire était réalisée afin de confirmer leur nature mixte organique et minérale.

Les cheveux, originellement blond vénitien, présentaient une couleur déconcertante brune foncée liée au dépôt *post-mortem* de liquide de décomposition solidifié (Figure 11) ; lorsque certains cheveux étaient au contact l'un de l'autre, ces dépôts s'interrompaient, et la structure naturelle du cheveu était alors visible, sans

Figure 11 : Détail de la surface d'un cheveu d'Agnès Sorel recouverte de liquide de décomposition solidifié (MEB, grossissement $\times 3 100$, cliché V. Mazel, P. Richardin et P. Charlier).



dépôt de surface, notamment la présence de cuticules organisées en écailles de poisson.

La détermination élémentaire de surface a bien montré, d'ailleurs, la grande richesse en plomb de ce liquide de décomposition ayant interagi avec le cercueil métallique (Figure 12), tandis que la surface de cheveux « propre » présentait un profil élémentaire classique pour des restes organiques non contaminés, notamment avec une richesse en soufre caractéristique (Figure 13).

L'étude microscopique optique systématique de près de 40 g de résidus de liquide de décomposition solidifié a permis de mettre en évidence de nombreux éléments cellulaires et tissulaires.

Tout d'abord, de multiples formations pilaires (pouvant correspondre à des fragments de cheveux, de poils pubiens et de poils axillaires) étaient incluses dans le

Figure 12 : Spectre élémentaire de la surface d'un cheveu d'Agnès Sorel recouverte de liquide de décomposition solidifié (cliché V. Mazel, P. Richardin et P. Charlier).

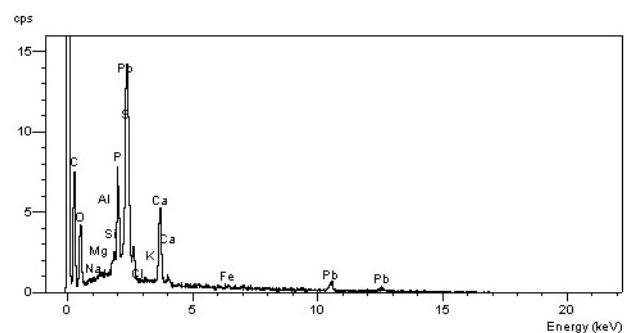
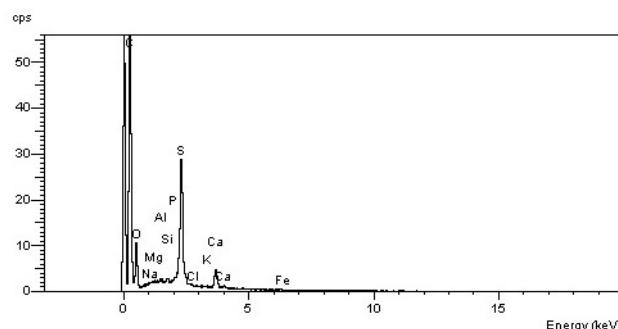


Figure 13 : Spectre élémentaire de la surface d'un cheveu « propre » d'Agnès Sorel (cliché V. Mazel, P. Richardson et P. Charlier).



liquide de décomposition solidifié. D'autre part, de nombreux filaments mycéliens ont été mis en évidence, principalement de type aspergillaire (diagnostic d'espèce confirmé par une étude mycologique ultérieure). De multiples colonies bactériennes étaient également présentes, majoritairement de type Gram négatif (sans espèce prédominante à l'issue d'une étude bactériologique ultérieure). Cette faune correspondait à une faune cadavérique classique, notamment dans une atmosphère humide archéologique (enfouissement sous terre).

Des amas de plaquettes ainsi que des hématies ont été observés, ces dernières reconnaissables à leur forme biconcave et à leur diamètre variant entre 5 et 7 μm . Leur couleur marron clair était due à une décoloration du cytoplasme par le plomb du sarcophage, une observation bien connue des anatomo-pathologues travaillant sur les restes anciens [24, 25]. Aucun parasite intra-cellulaire ne fut mis en évidence sur les presque 5 000 hématies examinées, ce qui était une observation négative importante compte tenu de la forte endémie palustre présente en France au 15^e siècle [1].

Toujours dans le liquide de décomposition solidifié, furent mis en évidence de très nombreux œufs d'ascaris, un ver parasite de l'homme à tropisme intestinal (Figure 14). Compte tenu du fait que ces œufs étaient inclus au plus profond du liquide de décomposition solidifié et non pas seulement présents en surface, il est possible d'affirmer qu'ils étaient initialement présents dans le cadavre d'Agnès Sorel au moment où celui-ci s'est décomposé. En outre, l'urne funéraire ayant été acheté neuve spécialement à l'occasion de la réduction du corps en 1777, il ne peut être proposé une contamination *post-mortem* par d'éventuels abats chargés de parasites auparavant présents dans l'urne.

Dans le même temps, furent observés de nombreux débris cellulaires de fougère mâle, une espèce végétale utilisée couramment en pharmacopée médiévale comme vermifuge. Sa présence dans le liquide de décomposition solidifié s'explique ainsi par l'absorption d'une décoction thérapeutique de fougère mâle peu de temps après le décès, et une libération de ces débris végétaux lors de l'autolyse cadavérique ; ils se sont alors mêlés au reste des structures tissulaires et cellulaires en cours de transformation.

Louis XI

Notre examen paléopathologique systématique [12] n'a pas retrouvé de dépôt de liquide de décomposition solidifié au contact des ossements de Louis XI, notamment au niveau de la voûte crânienne. En revanche, d'importants dépôts (Figure 15) étaient encore présents sur les flancs de son sarcophage de pierre, dans la crypte de la Basilique Notre-Dame à Cléry-Saint-André (Loiret).

Comme pour les échantillons du cercueil de plomb d'Agnès Sorel, l'observation microscopique de ce dépôt s'est révélée aussi fructueuse que celle de dépôts prélevés à la surface de restes osseux. Le fond était occupé par une substance acellulaire éosinophile sans structure anatomique reconnaissable ; tout juste était-elle ponctuée de quelques éléments bactériens ou mycéliens sans particularité.

Quelques éléments épithéliaux à type de cellules malpighiennes kératinisées ont été mises en évidence,

Figure 14 : L'un des très nombreux œufs d'ascaris observés dans le liquide de décomposition d'Agnès Sorel après cytocentrifugation (HES, cliché F. Bouchet).

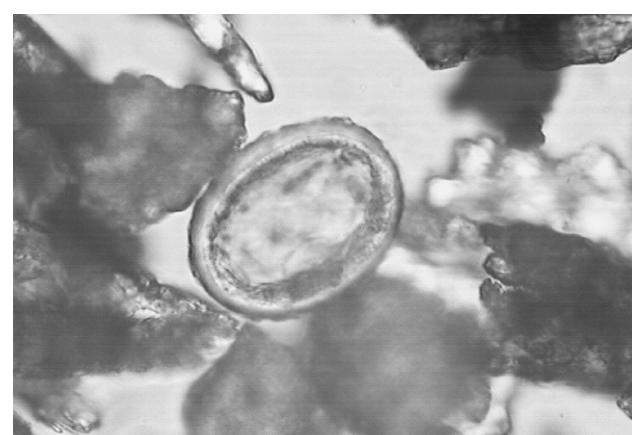


Figure 15 : Liquide de décomposition solidifié encore présent sur les flancs du sarcophage de Louis XI à Cléry-Saint-André (cliché P. Charlier).



d'un intérêt relativement limité (Figure 16). Tout juste peut-on remarquer la conservation nucléaire visible sous la forme d'une granulation basophile centrale, et l'absence d'atypie notable (dans les limites de la représentativité des rares cellules retrouvées).

Beaucoup plus intéressante a été la mise en évidence d'un cheveu court (1,3 cm de long) d'aspect blanchâtre, totalement inclus dans le liquide de décomposition solidifié (Figure 17). L'examen microscopique de celui-ci a confirmé sa nature humaine d'après ses caractéristiques morphologiques [11]. Mais il a également mis en évidence une canitie caractérisée par une couleur blanche complète de la trame du cheveu ; en effet, la coloration du Fontana n'a pas mis

Figure 16 : Cellule malpighienne kératinisée mise en évidence dans le liquide de décomposition solidifié après cytocentrifugation (HES, grossissement $\times 400$, cliché P. Charlier).

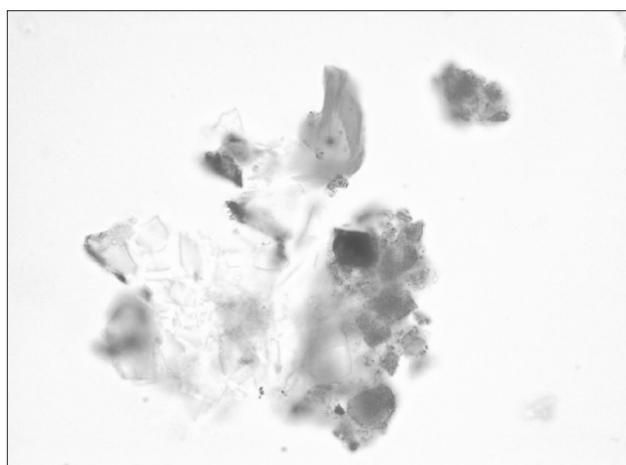
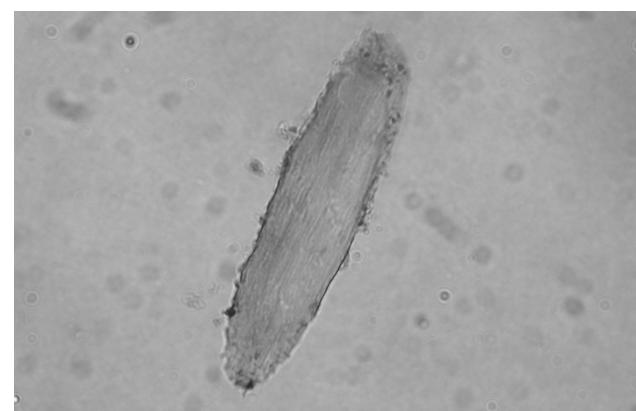


Figure 17 : Section de cheveu inclus dans le liquide de décomposition solidifié (HES, grossissement $\times 200$, cliché P. Charlier).



en évidence de persistance de pigment mélanique sur la totalité du segment capillaire conservé. On sait par ailleurs (chroniques de Philippe de Commynes) que Louis XI est mort, presque chauve et les cheveux blancs, à 60 ans.

Charlotte de Savoie

Les échantillons de liquide de décomposition solidifié de Charlotte de Savoie ont été prélevés dans la partie postérieure de son crâne, au niveau de la fosse occipitale (Figure 18), juste à proximité d'un trait de sciage (contemporain de l'embaumement de la reine, en 1483).

Figure 18 : Dépôt de liquide de décomposition solidifié au niveau de l'écaille occipitale, juste au-dessus du niveau de découpe du crâne de Charlotte de Savoie lors de l'embaumement (cliché P. Charlier).



Figure 19 : Paquet d'hématies (déformées) observées dans le liquide de décomposition solidifié de Charlotte de Savoie après cytocentrifugation (HES, $\times 1\,000$, cliché P. Charlier).

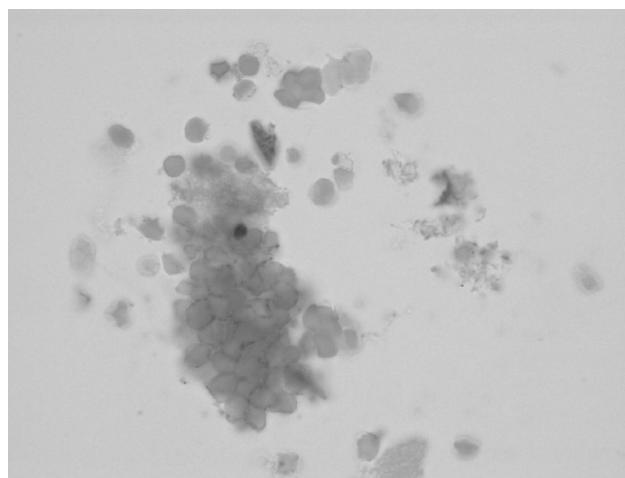
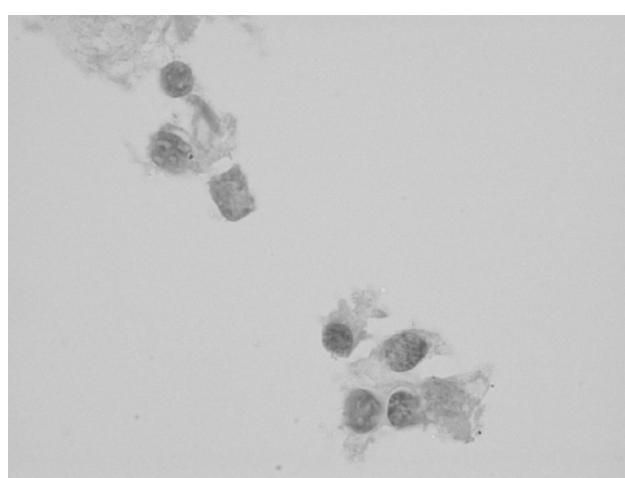


Figure 20 : Paquet de leucocytes observés dans le liquide de décomposition de Charlotte de Savoie après cytocentrifugation (HES, $\times 1\,000$, cliché P. Charlier).



Les éléments mis en évidence ont été principalement représentés par des éléments figurés du sang et par des hématies dont la conservation s'est révélée excellente (Figures 19 et 20), sans anomalie particulière mise en évidence, notamment sans parasite intra-cytoplasmique. La morphologie suffisait pour identifier ces éléments cellulaires caractéristiques, mais un immuno-marquage (anticorps anti-panleucocytaire, par exemple) aurait pu confirmer leur nature lymphoïde.

SYNTHÈSE

L'étude au microscope optique et électronique à balayage (MEB) du liquide de décomposition solidifié, méthode nouvelle que nous avons mis en application pour la première fois sur ces prélèvements, s'est révélée riche d'enseignements.

L'un de ses avantages est de ne pas être destructrice lorsque l'échantillon est examiné tel quel au MEB sitôt après prélèvement, ne demandant aucune préparation. Elle permet d'observer de nombreuses structures biologiques encore présentes dans ces formations calcifiées au cours du temps (dure-mère, hématies, filaments mycéliens, colonies bactériennes, parois vasculaires capillaires, etc.), mais ce diagnostic ne reste que morphologique (le diagnostic cytologique ou histologique ne devient certain que grâce à des dosages élémentaires ou en confrontant ces observations avec celles d'une préparation classique colorée à l'HES).

En revanche, la technique en cytologie standard (microscopie optique) apparaît destructrice, mais favorise les diagnostics directs ; les observations morphologiques histologiques sont en revanche impossible en raison de la fragmentation des prélèvements. Il apparaît dans tous les cas nécessaire de réaliser un examen et des dosages élémentaires du sédiment adjacent afin de vérifier, comme toujours, si les valeurs relevées témoignent d'une contamination extérieure ou sont d'origine. La nature même du liquide de décomposition résulte d'un mélange entre l'environnement du défunt et le catabolisme du cadavre (décomposition et putréfaction). Dans le cadre du liquide de décomposition intra-crânien, la contamination extérieure semble être nettement moindre (comparativement aux prélèvements réalisés sur les os longs, par exemple), pour des raisons anatomiques évidentes. ■

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BIANUCCI R., MATTUTINO G., LALLO R., CHARLIER P., JOUIN-SPRIET H., PELUSO A., HIGHAM T., TORRE C., RABINO MASSA E. – Immunological evidence of *Plasmodium falciparum* infection in an Egyptian child mummy from the Early Dynastic Period. *Journal of Archaeological Science*, 2008, 35, 7, 1880-1885.
- [2] BLONDIAUX J., CHARLIER P. – Palaeocytology in skeletal remains. Microscopic examination of putrefaction fluid deposits and dental calculus of skeletal remains from

- French archaeological sites. *Int. J. Osteoarchaeology*, 2008, 18, 1, 1-10.
- [3] CABIROL N., POMMIER M.T., GUEUX M., PAYEN G. – Comparison of lipid composition in two types of human putrefactive liquid. *Forensic Sci. Int.*, 1998, 94, 1-2, 47-54.
- [4] CHARLIER P. – Vie et mort de la Dame de Beauté. L'étude médicale des restes d'Agnès Sorel. *Rev. Prat. (Monographie)*, 2005, 15, 55, 1734-1737.
- [5] CHARLIER P. – Death of a Beauty. *Paleopathol. News*., 2005, 132, 18-23.
- [6] CHARLIER P. – Les dents d'Agnès Sorel. *L'Information dentaire*, 2005, 25, 87, 1512-1513.
- [7] CHARLIER P. – L'évolution des procédures d'embaumement aristocratique en France médiévale et moderne (Agnès Sorel, le Duc de Berry, Louis XI, Charlotte de Savoie, Louis XIII, Louis XIV et Louis XVIII). *Medicina nei secoli*, 2006, 18, 3, 777-798.
- [8] CHARLIER P., LORIN DE LA GRANDMAISON G. – Etude microscopique (optique et MEB) du liquide de décomposition solidifié. In CHARLIER P. (dir.), *Ostéo-archéologie et techniques médico-légales : tendances et perspectives. Pour un « Manuel pratique de paléopathologie humaine »*, Paris, De Boccard, 2008, 189-200.
- [9] CRUBÉZY E. – Soins et traitements pharmaceutiques dans les populations du passé. Une problématique à l'interface des sciences de la vie, des sciences humaines et de la chimie. *Sciences Chimiques (Lettres des Départements Scientifiques du CNRS)*, 2003, 79, 27-34.
- [10] DORAN G.H., DICKEL D.N., BALLINGER W.E. JR, AGEE O.F., LAIPIS P.J., HAUSWIRTH W.W. – Anatomical, cellular and molecular analysis of 8,000 years old human brain tissue from the Windover archaeological site. *Nature*, 1986, 323, 803-806.
- [11] DURIGON M. – *Pratique médico-légale*. Paris, Masson, 1999.
- [12] GEORGES P., ACQUAVIVA C., BRUZEK J., CHARLIER P., ESCUDIER D., GERMINET D., HERMENT H., HOUËT F., JESSET S., MURAIL P., SALIN M., SCHEMMANA V., SCHMITT A., VELEMINSKY P. – *Étude du caveau royal et des sépultures de la chapelle des Dunois-Longueville de l'église Notre-Dame de Cléry-Saint-André (Loiret). Approche critique des données anciennes et récentes. Rapport d'étude et perspectives de recherches nouvelles*. INRAP, SRA du Centre, Orléans, 2005.
- [13] GILL-KING H. – Chemical and ultrastructural aspects of decomposition. In HAGLUND W.H., SORG L.H. (dir.), *Forensic taphonomy*. Londres, CRC Press, 1997, 93-108.
- [14] HAUSWIRTH W.H., DICKEL C., DORAN G.H., LAIPIS P.J., DICKEL D.N. – 8000-year-old brain tissue from the Windover site. Anatomical, cellular and molecular analysis. In ORTNER D.J., AUFDERHEIDE A.C. (dir.), *Human paleopathology. Current syntheses and future options*. Washington, Smithsonian Institution Press, 1991, 60-72.
- [15] LECLERCQ M. – *Entomologie médico-légale. Datation de la mort*. Paris, Masson, 1978.
- [16] LÉRY N., PAYEN G., MARTIN G., LE CLOIREC P., BOUJET C., DUCROS V., FAVIER A., LATURAZE J., RIMOUX L., ARDOUIN A. – La décomposition des corps en sépulture étanche. Essai d'une approche méthodologique. *Acta Med. Leg. Soc. (Liège)*, 1988, 38, 1, 133-143.
- [17] MAAT G.J.R. – Ultrastructure of normal and pathological fossilized red blood cells compared with pseudopathological biological structures. *Int. J. Osteoarchaeol.*, 1991, 1, 3-4, 209-214.
- [18] MAZEL V., RICHARDIN P., CHARLIER P. – Restes biologiques dans les patines rituelles de la statuaire Dogon (Mali). In CHARLIER P. (dir.), *1^{er} Colloque international de Pathographie (Loches, Avril 2005)*. Paris, De Boccard, 2006, 137-150.
- [19] MICOZZI M.S. (dir.) – *Post-mortem change in human and animal remains. A systematic approach*. Springfield (Illinois), Charles C. Thomas, 1991.
- [20] PAYEN G., LÉRY N., RIMOUX L., GUEUX M., ARDOUIN R. – La décomposition des corps en sépulture étanche. Modifications macroscopiques des cadavres et contaminations. *Acta Med. Leg. Soc. (Liège)*, 1988, 38, 1, 145-151.
- [21] PAYEN G., RIMOUX L., GUEUX M., LÉRY N. – La décomposition des corps en sépulture étanche. Aspects microbiologiques et environnementaux. *Acta Med. Leg. Soc. (Liège)*, 1988, 38, 1, 153-163.
- [22] RIMOUX L., GUEUX M., BOUJET C., MARTIN G., LE CLOIREC P. – La décomposition des corps en sépulture étanche. Biochimie des effluents liquides et gazeux. *Acta Med. Leg. Soc. (Liège)*, 1988, 38, 1, 165-184.
- [23] SCHMITT A., CUNHA E., PINHEIRO J. (dir.) – *Forensic anthropology and medicine. Complementary sciences from recovery to cause of death*. Totowa (New Jersey), Humana Press, 2006.
- [24] THILLAUD P.L., GLON Y., CHARLIER P., VIGNAL J.N. – La momie du Fin-Renard (Bourges). In GOUREVITCH D. (dir.), *Maternité et petite enfance dans l'Antiquité romaine*. Bourges, Muséum d'Histoire Naturelle, 2003, 102-110.
- [25] THILLAUD P.L., GLON Y., CHARLIER P., VIGNAL J.N. – Les secrets de la momie de Bourges. *Revue du Praticien (Monographie)*, 2004, 54, 691-293.

INFORMATION

L'asthme en France en 2006 : prévalence et contrôle des symptômes

Anissa Afrite, Caroline Allonier, Laure Com-Ruelle, Nelly le Guen

Avec la collaboration de Isabella Annesi-Maesano, Marie-Christine Delmas, Claire Furhman,
Bénédicte Leynaert

En 2006, 6,26 millions de personnes en France métropolitaine déclarent avoir souffert d'asthme à un moment quelconque de leur vie et, parmi elles, 4,15 millions continuent à en souffrir, soit 6,7 % de la population. Les hommes sont globalement autant concernés que les femmes mais il existe des différences selon l'âge. Moins d'un asthmatique sur deux a recours à un traitement de fond, c'est-à-dire une thérapeutique indiquée pour réduire et maîtriser l'intensité des symptômes liés à l'hyperréactivité bronchique caractérisant cette maladie chronique.

Chez six asthmatiques sur dix, le niveau de contrôle des symptômes est insuffisant : partiellement dans 46 % des cas et totalement dans 15 %. Parmi ces derniers, un quart ne prend pas de traitement de fond.

Toutes choses égales par ailleurs, être obèse, fumer, vivre dans un ménage à faibles revenus ou de structure monoparentale augmente le risque d'avoir un asthme totalement non contrôlé.

Ces résultats sont issus de l'Enquête Santé et Protection Sociale (ESPS) réalisée en population générale ; elle intègre un questionnement spécifique sur l'asthme afin d'identifier les personnes asthmatiques et le niveau de contrôle de leurs symptômes.

Pour en savoir plus :

L'asthme en France en 2006 : prévalence et contrôle des symptômes

Rapport IRDES, décembre 2008

A commander à l'IRDES – Service diffusion – 10, rue Vauvenargues – 75018 PARIS ou à consulter sur le site Internet : www.irdes.frp