



HAL
open science

Comparaison des approches histologiques et micro-tomographiques pour l'étude de la diagenèse osseuse

Lolita Trenchat, Nicolas Vanderesse, Eric Pubert, Yannick Lefrais, Katrien
van de Vijver, Sacha Kacki, Eline M J Schotsmans

► To cite this version:

Lolita Trenchat, Nicolas Vanderesse, Eric Pubert, Yannick Lefrais, Katrien van de Vijver, et al.. Comparaison des approches histologiques et micro-tomographiques pour l'étude de la diagenèse osseuse. *Bulletins et Mémoires de la Société d'anthropologie de Paris*, 2024, *Analyses invasives, micro-invasives et non-invasives des vestiges anthropobiologiques*, 36 (1), 10.4000/bmsap.14092 . hal-04668775

HAL Id: hal-04668775

<https://hal.science/hal-04668775v1>

Submitted on 7 Aug 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NoDerivatives 4.0 International License

Comparaison des approches histologiques et micro- tomographiques pour l'étude de la diagenèse osseuse

Evaluating histology and micro-tomography for the study of bone diagenesis

**Lolita Trenchat, Nicolas Vanderesse, Éric Pubert, Yannick Lefrais, Katrien
Van de Vijver, Sacha Kacki et Eline M.J. Schotsmans**



Édition électronique

URL : <https://journals.openedition.org/bmsap/14092>

DOI : [10.4000/bmsap.14092](https://doi.org/10.4000/bmsap.14092)

ISSN : 1777-5469

Éditeur

Société d'Anthropologie de Paris

Référence électronique

Lolita Trenchat, Nicolas Vanderesse, Éric Pubert, Yannick Lefrais, Katrien Van de Vijver, Sacha Kacki et Eline M.J. Schotsmans, « Comparaison des approches histologiques et micro-tomographiques pour l'étude de la diagenèse osseuse », *Bulletins et mémoires de la Société d'Anthropologie de Paris* [En ligne], 36 (1) | 2024, mis en ligne le 03 mai 2024, consulté le 19 juillet 2024. URL : <http://journals.openedition.org/bmsap/14092> ; DOI : <https://doi.org/10.4000/bmsap.14092>



Le texte seul est utilisable sous licence CC BY-NC-ND 4.0. Les autres éléments (illustrations, fichiers annexes importés) sont « Tous droits réservés », sauf mention contraire.



BMSAP

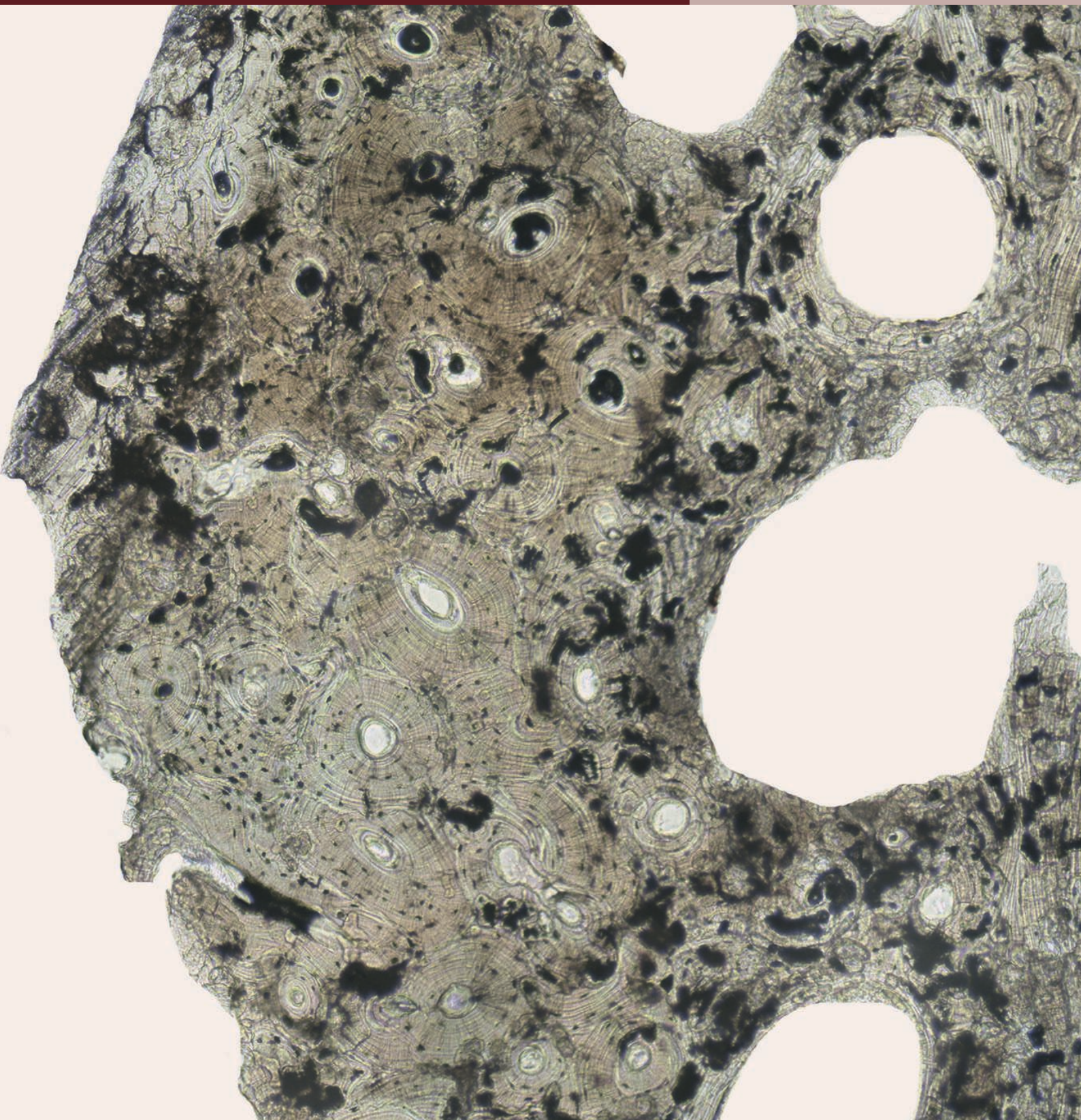
Bulletins et Mémoires de la Société d'Anthropologie de Paris

VOLUME 36 # 1

AVRIL 2024

ISSN 0037-8984

Publication fondée en 1859



*Revue soutenue par l'Institut des sciences humaines et sociales (InSHS) du CNRS
2023-2024*

Comparaison des approches histologiques et micro-tomographiques pour l'étude de la diagenèse osseuse

Evaluating histology and micro-tomography for the study of bone diagenesis

Lolita Trenchat ^{1,2*}, Nicolas Vanderesse¹, Éric Pubert ¹, Yannick Lefrais³,
Katrien Van de Vijver ⁴, Sacha Kacki ^{1,5}, Eline M.J. Schotsmans ^{1,2}

1. Univ. Bordeaux, CNRS, Ministère de la Culture, PACEA, UMR 5199, Pessac, France
2. Environmental Futures Research Centre, University of Wollongong, Wollongong, Australia
3. Archéosciences Bordeaux, UMR 6034, CNRS-Université Bordeaux Montaigne, Pessac, France
4. Royal Belgian Institute of Natural Sciences, Brussels, Belgium
5. Department of Archaeology, Durham University, Durham, United Kingdom

* lt204@uowmail.edu.au

Reçu : 4 septembre 2023 ; accepté : 19 mars 2024
Bulletins et Mémoires de la Société d'Anthropologie de Paris

Cette note fait suite à une communication présentée lors des 1848^{es} journées de la Société d'Anthropologie de Paris dans le cadre de la session "Analyses invasives, micro-invasives et non-invasives des vestiges anthropobiologiques. Comment et pourquoi ?"

Résumé – L'histologie est la méthode la plus classiquement utilisée pour étudier la diagenèse osseuse. Elle est cependant destructrice, ce qui a conduit certains chercheurs à proposer une approche alternative reposant sur la micro-tomographie, une méthode non invasive de plus en plus utilisée en recherche archéologique. Cette étude a pour objectif d'évaluer les apports et limites de ces méthodes pour analyser la diagenèse osseuse, ceci afin de déterminer si la micro-tomographie (non destructrice) serait plus intéressante que l'histologie (destructrice). Elle vise en outre à proposer une évaluation quantitative de la diagenèse, afin de palier la subjectivité inhérente aux classifications existantes. À ces fins, des échantillons osseux appartenant à six individus du cimetière paroissial St. Anne (1833-1916) de Koekelberg (Belgique) ont été analysés. Les lames minces et scans des os ont fait l'objet d'une qualification visuelle de la dégradation osseuse à l'aide de l'*Oxford Histological Index* et d'une quantification par analyses d'images. Les résultats montrent que la micro-tomographie permet une évaluation des dégradations sur tout l'échantillon scanné sans le détruire. Ceci est impossible en histologie, qui n'autorise l'étude que d'une partie restreinte de l'os correspondant à la lame mince. Cependant, l'histologie a une résolution numérique plus fine apportant plus de détails sur les microstructures osseuses. Cette étude démontre ainsi que les méthodes offrent des informations différentes mais complémentaires sur la diagenèse osseuse.

Mots clés – dégradation osseuse, taphonomie, invasif, quantification, XIX^e siècle

Abstract – Histology is a conventional but destructive technique for investigating bone diagenesis. Micro-tomography is a non-destructive technique that can also be used to investigate diagenetic alterations. The aim of this study is to evaluate the benefits and limitations of these two methods by analysing bone diagenesis to determine if micro-tomography (non-destructive) can be more beneficial than histology (destructive), and if scoring can be quantified in both methods. Therefore, bone samples from six individuals from the churchyard of St. Anne (1833-1916) in Koekelberg (Belgium) were analysed. Each thin section and scan was qualitatively scored with the Oxford Histological Index and quantitatively assessed through image analysis. The results show that micro-tomography allows assessment of degradation of the scanned bones without destruction. This is impossible with histology where analysis is restricted to a small cross-section. On the other hand, histology brings more detail to the bone microstructure thanks to its finer resolution. Overall, this study demonstrates that both methods provide different but complementary information about bone diagenesis and stresses the importance of using quantifying methods to analyse diagenetic alterations.

Keywords – bone degradation, taphonomy, invasive, quantification, 19th century

Introduction

La diagenèse osseuse (c.-à-d. l'ensemble des processus physiques, chimiques et biologiques de dégradation que

subissent les ossements après le décès d'un être vivant) mène, selon les contextes et la durée d'exposition à ces processus, à une destruction partielle ou totale ou à une fossilisation des os (Nielsen-Marsh et al., 2007 ; Smith et al., 2007 ; Booth, 2017). En archéologie, son étude présente un intérêt majeur en cela qu'elle apporte des informations sur la préservation osseuse, elle-même influencée par les processus taphonomiques et par les contextes funéraires et environnementaux. De ce fait, en examinant la diagenèse osseuse, il est théoriquement envisageable de reconstruire les processus post-mortem ainsi que certains aspects des pratiques funéraires (Brönnimann et al., 2018).

Depuis les premiers travaux de Wedl au XIX^e siècle, la diagenèse osseuse est principalement examinée par le prisme de l'histologie. Cette méthode invasive, qui se traduit par la réalisation de lames minces du matériel étudié, permet d'analyser les structures internes osseuses grâce aux méthodes de microscopie (Bell et al., 1991 ; Brönnimann et al., 2018). Ces dernières décennies, les techniques d'histologie et de microscopie ont fortement progressé, conduisant à un renouveau des analyses de la diagenèse osseuse. Les lames minces peuvent ainsi aujourd'hui être observées non seulement en microscopie optique, mais également en microscopie électronique à balayage (MEB) avec spectroscopie à dispersion d'énergie (EDS), ce qui permet de dresser une cartographie chimique de la surface osseuse examinée et ainsi d'associer les dégradations à des zones hyperminéralisées ou déminéralisées (Turner-Walker et Syversen, 2002 ; Dal Sasso et al., 2014). Par ailleurs, des protocoles ont été proposés afin d'évaluer le taux d'altération des ossements et de catégoriser leur diagenèse. C'est notamment le cas de l'*Oxford Histological Index* (OHI), mis au point par Hedges et collaborateurs (1995) et repris par Millard (2001). Cette méthode, aujourd'hui la plus couramment utilisée pour qualifier la diagenèse osseuse, n'est cependant pas exempte de limites, reposant sur un examen visuel de coupes histologiques, et étant donc fortement influencée par l'expertise et l'expérience de l'observateur.

Plus récemment, la micro-tomographie aux rayons X, méthode non invasive de plus en plus utilisée en recherche archéologique, a été employée dans plusieurs études afin de caractériser la dégradation de vestiges osseux (Dal Sasso et al., 2014 ; Booth et al., 2016 ; Duffet Carlson et al., 2022 ; Mandl et al., 2022). Il apparaît cependant que si tous ces travaux ont souligné le potentiel d'une telle méthode pour étudier la diagenèse, aucune n'a proposé une confrontation directe entre histologie et micro-tomographie afin d'évaluer leurs apports et limites respectifs. Toutefois, ces deux méthodes ont déjà été comparées dans le cadre d'études sur les pathologies osseuses et dentaires (Rühli et al., 2007 ; Boca et al., 2017 ; Aksoy et al., 2020).

La présente étude vise à combler cette lacune, au travers de l'analyse comparée de mêmes échantillons osseux par histologie et micro-tomographie. Par ce biais, elle vise (1) à évaluer si la micro-tomographie peut remplacer l'histologie pour l'étude de la diagenèse osseuse, (2) à mettre en évidence les avantages et limites de ces deux méthodes,

et (3) à proposer un protocole quantitatif d'évaluation de la diagenèse plus objectif que les indices actuellement employés.

Matériel et méthodes

Les échantillons osseux étudiés dans ce travail proviennent du cimetière paroissial St. Anne de Koekelberg (Belgique), en fonction de 1833 à 1916 et partiellement fouillé en 2016 par les Musées royaux d'Art et d'Histoire (Claes et al., 2016). Une côte (la troisième si présente et identifiable) et le fémur droit de six individus adultes provenant de sépultures primaires à inhumation ont été sélectionnés (pour plus de détails sur le contexte et les sépultures, voir Claes et al., 2016; Van de Vijver, 2020). Ces os ont été sélectionnés dans un but de comparaison avec le reste de la littérature. En effet, les fémurs et côtes sont favorisés dans les études sur la diagenèse et sur la taphonomie (Jans et al., 2004 ; Dal Sasso et al., 2014).

Chacun des douze os étudiés a, dans un premier temps, fait l'objet d'acquisitions micro-tomographiques. Chaque côte a été analysée sur une zone réduite d'environ 1 cm de long avec une résolution numérique de l'ordre de 10 μm / voxel. Les fémurs ont été analysés à deux reprises, tout d'abord à résolution moyenne (18-15 μm /voxel) sur une section diaphysaire de 2 \times 3 cm du fémur complet, puis une seconde fois à 13-11 μm / voxel sur une découpe d'environ 1 \times 1 cm extraite de la même zone. Une coupe histologique a ensuite été préparée à partir de ce fragment, à une position préalablement repérée au crayon de papier de façon à pouvoir ensuite comparer exactement la même coupe en microscopie et en micro-tomographie.

Les acquisitions ont été réalisées à la Plateforme Aquitaine de Caractérisation des MATériaux (PLACAMAT, à Pessac) à l'aide d'un scanner micro-tomographique GE Phoenix v/tome/x S muni d'un filtre en cuivre de 0,1 mm. Tous les scans ont été effectués à 300 μA et 100 kV ; 2550 projections ont été prises pour une rotation de l'échantillon de 360°. Chaque scan a duré 1,5 h pour des résolutions numériques allant de 18 à 8 μm selon les os (18-15 μm pour les fémurs entiers ; 13-11 μm pour les coupes de fémurs ; 10-8 μm pour les coupes de côtes). Le traitement des images 3D a été réalisé à l'aide du logiciel *Dragonfly* (Object Research Systems (ORS) Inc, 2020).

Des lames minces ont par la suite été réalisées, en suivant les méthodes conventionnelles d'histologie (Bancroft et Stevens, 1996) et selon des protocoles spéciaux d'histologie osseuse (Miszkievicz, 2015 ; 2016 ; Yang et al., 2020). Les échantillons ont été enrobés dans une résine époxy (100 % Presi MA2+, 10 % catalyseur) et découpés à l'aide d'une scie de précision (Buehler - Isomet 5000) munie d'une lame diamantée (Buehler 11-4245). Après polissage manuel à l'aide d'une polisseuse rotative motorisée (Presi - Le Cube), ils ont été montés sur lames de verre avec une colle époxy (Escil - Geofix). Cette opération a été suivie d'une coupe de niveau à l'aide de la même scie de précision, puis d'une nouvelle phase de ponçage-polissage

jusqu'à obtenir des sections de 80 μm d'épaisseur. Les lames minces ainsi obtenues ont été examinées au microscope optique en lumière transmise et polarisée (Leica DM2500P) à différents grossissements : $\times 40$, $\times 100$ et $\times 200$. Des micrographies individuelles ont été acquises à l'aide du logiciel *Leica Application Suite*, puis recollées pour produire une vue d'ensemble des lames minces. Entre une vingtaine d'images et plus d'une soixantaine ont été nécessaires pour réaliser une vue d'ensemble à objectifs $\times 4$ et $\times 20$, respectivement. La résolution numérique obtenue est environ inférieure à 1 $\mu\text{m}/\text{pixel}$. Par la suite, les images histologiques ont été analysées avec le logiciel *Dragonfly*.

Afin d'évaluer la diagenèse osseuse, deux approches distinctes ont été adoptées. D'une part, nous avons réalisé, comme cela se fait classiquement en pratique archéologique, un examen visuel des lames minces et des coupes virtuelles correspondantes repérées dans les images 3D, ceci afin d'attribuer à chacune un score d'OHI "qualitatif" (compris entre 0 et 5 ; tableau 1). D'autre part, nous avons développé et appliqué un protocole afin de procéder à une quantification du score OHI sur les lames minces et sur les coupes virtuelles (OHI "quantitatif"). À cette fin, pour

chaque image 3D et histologique obtenue à partir des lames minces, les intensités lumineuses ont été ajustées et le bruit des images a été réduit par filtrage (tableau 2). Après ces traitements, l'échantillon a fait l'objet d'une segmentation automatique en deux temps afin de séparer l'os en deux zones mutuellement exclusives, c.-à-d. altérée vs. préservée. Cette segmentation repose sur les différences de niveaux de luminosité observés dans les zones altérées ou non, que ce soit en microscopie optique sur les lames minces ou en micro-tomographie dans l'image 3D. Une première segmentation a été réalisée avec un algorithme de seuillage automatique (Otsu) afin de séparer l'os de l'arrière-plan. Ensuite, une deuxième segmentation utilisant le même algorithme a été effectuée pour séparer l'os plus dense et plus clair, correspondant à l'os préservé, de l'os moins dense et plus sombre, correspondant à l'os altéré. La figure 1 illustre le résultat obtenu, qui permet de visualiser dans des couleurs distinctes les zones préservées et altérées. Les surfaces de ces zones ont par la suite été mesurées. Le pourcentage d'os préservé peut ainsi être déterminé en faisant le rapport entre la surface de celui-ci et la surface totale de l'os.

Score OHI	% Microstructure préservée	Description
0	<5 %	Pas de structure identifiable autre que les canaux de Havers
1	<15 %	Petite zone bien préservée, ou quelques structures lamellaires préservées entre les lacunes osseuses
2	<50 %	Quelques zones d'os bien préservées entre les zones altérées
3	>50 %	Grandes zones d'os préservées présentes
4	>85 %	L'os est presque entièrement bien préservé, à l'exception de quelques zones de destructions osseuses
5	>95 %	Os très bien préservé, pas de différence avec un os frais moderne

Tableau 1. Oxford Histological Index selon Millard (2001) / *Oxford Histological Index according to Millard (2001)*

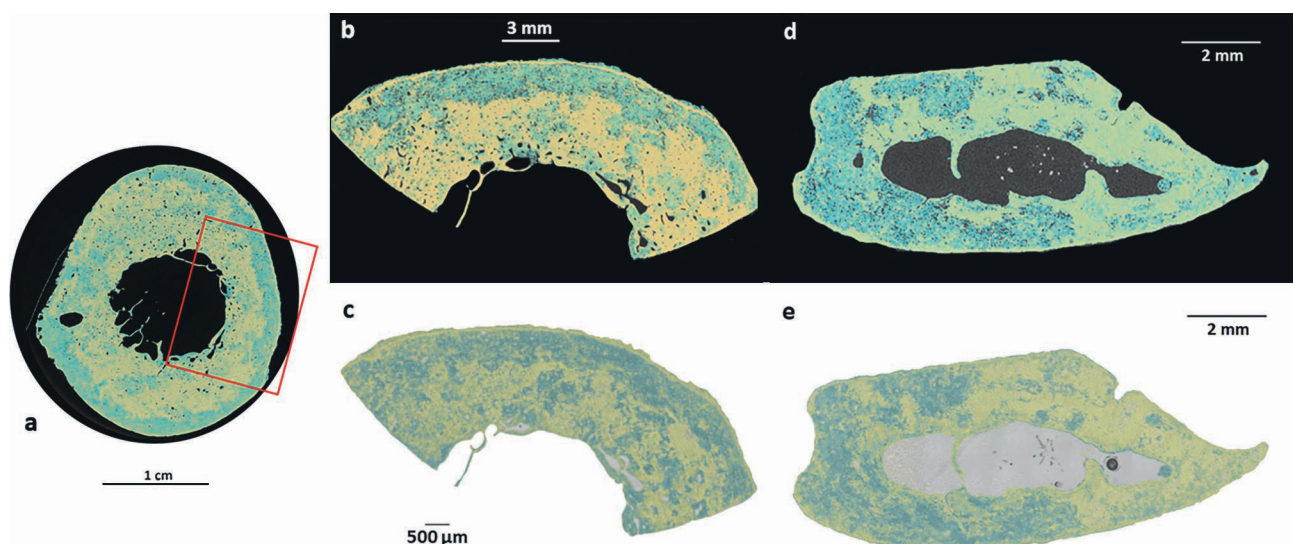


Figure 1. Segmentation de l'os préservé (en jaune) et altéré (en bleu) pour une côte et le fémur droit appartenant à un même individu (US 27). a) Coupe virtuelle du fémur entier ; b) Coupe virtuelle de la région d'intérêt (rectangle rouge) du fémur ; c) Lame mince de la section du fémur correspondant à la région d'intérêt visualisée en b) ; d) Coupe virtuelle de la côte ; e) Lame mince de la côte / *Segmentation of the preserved bone tissue (in yellow) and the altered tissue (in blue) for a rib and the right femur of the same individual (US 27). a) Virtual cross-section of the complete femur; b) Virtual cross-section of the region of interest (red frame) of the femur; c) Thin section of the femur corresponding to the region of interest visualized in b); d) Virtual cross-section of the rib; e) Thin section of the rib*

Niveau de gris	Réduction du bruit	Segmentation	Calcul de pourcentage d'os préservé
<i>Window levelling</i>	Filtre <i>Smoothing Kuwahara</i> <i>Process islandShape</i>	Première segmentation (os/arrière-plan) : algorithme <i>Upper Otsu</i> Deuxième segmentation (os préservé/os altéré) : algorithme <i>Split at Otsu</i>	$\frac{\text{nb de pixels de l'os préservé}}{\text{nb de pixels de l'os entier}} \times 100$

Tableau 2. Récapitulatif des outils utilisés pour traiter les images à l'aide du logiciel Dragonfly / *Summary table of the tools used with the image processing software Dragonfly*

Résultats

Informations fournies par l'histologie et la micro-tomographie

Les effets de la diagenèse osseuse ont pu être observés tant sur les lames minces que sur les coupes virtuelles obtenues à partir des images 3D. Ainsi, les deux méthodes permettent de visualiser les tunnels bactériens témoins de la bio-érosion, ainsi que plus généralement la dégradation du tissu osseux. Cependant, des différences entre les deux méthodes sont également perceptibles et tiennent en premier lieu aux différences de résolutions numériques entre elles. Les lames minces analysées en microscopie optique (résolution numérique <1 µm) permettent ainsi d'examiner en

plus grand détail la micro-architecture osseuse (ostéons, canalicules et lacunes ostéocytaires) et donc sa dégradation (figure 2). La micro-tomographie, du fait de sa résolution numérique moins fine (18-8 µm) dans cette étude, ne permet pas ces identifications. En effet, le choix de scanner des volumes de tailles raisonnables, dans l'optique de réaliser une étude la moins invasive possible, a été favorisé résultant en une résolution numérique moins fine. Néanmoins, des études plus poussées employant par exemple la micro-tomographie par rayonnement synchrotron pourraient apporter plus de détails sur la dégradation osseuse, notamment parce que le volume scanné est plus réduit (Caruso et al., 2020 ; 2021). Toutefois, l'histologie autorise d'autres analyses, comme par exemples celles en lumière polarisée ou en microscopie électronique.



Figure 2. Côte de l'individu US 76 observée en lumière transmise ($\times 200$) permettant d'observer les types de dégradations osseuses (tunnels noirs) / *Rib of individual US 76 under transmitted light ($\times 200$), showcasing the different types of bone degradation (black tunnels)*

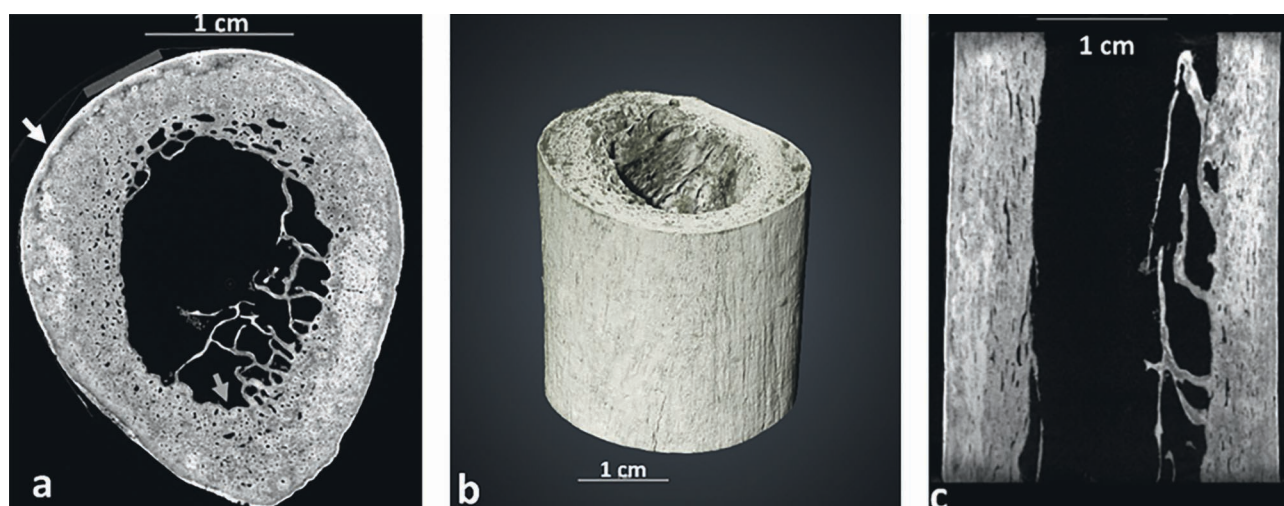


Figure 3. Micro-CT scan du fémur de l'individu US 15. a) Coupe transversale permettant de distinguer les zones les plus denses correspondant aux zones claires (flèche blanche) et celles moins denses correspondant aux zones plus sombres (flèche grise); b) Reconstruction 3D de l'échantillon; c) Coupe longitudinale permettant de visualiser les altérations du tissu osseux le long de la diaphyse / *Micro-CT scan of the femur of the individual US 15. a) Transversal cross-section permitting to observe the denser areas corresponding to the lighter areas (white arrow) and the less dense areas corresponding to the darker areas; b) 3D reconstruction of the sample; c) Longitudinal cross-section showcasing the bone tissue degradations along the diaphysis*

En revanche, la micro-tomographie permet de visualiser la diagenèse osseuse sur tout l'échantillon scanné et d'étudier autant de coupes virtuelles que souhaité, aussi bien transversales que longitudinales, ceci sans l'endommager. Il est également possible d'effectuer des reconstructions 3D (figure 3), autorisant une cartographie beaucoup plus précise des altérations taphonomiques.

Quantification de la diagenèse osseuse

Les scores des OHI "qualitatif" établis à partir des lames minces et des scans ont été comparés afin d'évaluer l'adéquation des classifications obtenues par les deux méthodes (tableau 3). Mis à part pour deux échantillons où un problème lors de la réalisation des lames minces est parvenu (US 15 : fémur et US 37 : côte), les résultats sont identiques.

Les scores des OHI "quantitatifs" obtenus sur la base des scans et ceux obtenus sur la base des lames minces sont également concordants (tableau 4). Les valeurs numériques fournies par l'algorithme de quantification automatisée sont strictement identiques entre les deux méthodes pour 10 des 12 échantillons. Pour les deux derniers (fémur de l'US 15 et la côte de l'US 37), la discordance entre les pourcentages d'os préservé est supérieure à 20 %.

Des différences plus nombreuses sont relevées lorsque sont confrontés les OHI "quantitatifs" et "qualitatifs" (tableau 5). Ainsi, un tiers des échantillons (n=4) présente des différences équivalant à un écart d'un stade de l'*Oxford Histological Index*. Ces différences sont plus particulièrement observées pour des échantillons dont l'OHI "quantitatif" est proche de la limite entre deux stades OHI (p. ex. la côte de l'US 77 qui est préservée à 94 % et est donc très proche de la limite entre les scores OHI 4 et 5).

Échantillon	OHI	
	lame mince	micro-CT scan
US 15 – côte	2	2
US 15 – fémur	1	2
US 27 – côte	3	3
US 27 – fémur	3	3
US 37 – côte	1	3
US 37 – fémur	3	3
US 76 – côte	3	3
US 76 – fémur	3	3
US 77 – côte	5	5
US 77 – fémur	5	5
US 100 – côte	5	5
US 100 – fémur	5	5

Tableau 3. Comparaison des OHI obtenus pour les lames minces et les scans. Les différences sont présentées en gras rouge / *OHI score comparison for the thin sections and the micro-CT scans. Differences appear in red bold*

Échantillon	Pourcentage d'os préservé	
	lame mince	micro-CT scan
US 15 – côte	58 %	58 %
US 15 – fémur	24 %	45 %
US 27 – côte	68 %	68 %
US 27 – fémur	63 %	63 %
US 37 – côte	41 %	67 %
US 37 – fémur	76 %	76 %
US 76 – côte	62 %	62 %
US 76 – fémur	66 %	66 %
US 77 – côte	94 %	94 %
US 77 – fémur	95 %	95 %
US 100 – côte	93 %	93 %
US 100 – fémur	91 %	91 %

Tableau 4. Comparaison des données quantitatives de la préservation osseuse obtenues pour les lames minces et les scans. Les différences sont indiquées en gras rouge / *Comparison of quantitative data on bone preservation as obtained through thin sections and micro-CT scans. Differences appear in red bold*

Échantillon	OHI	
	qualitatif	quantitatif
US 15 – côte	2	3 (58 %)
US 15 – fémur	2	2 (45 %)
US 27 – côte	3	3 (68 %)
US 27 – fémur	3	3 (63 %)
US 37 – côte	2	3 (67 %)
US 37 – fémur	3	3 (76 %)
US 76 – côte	3	3 (62 %)
US 76 – fémur	3	3 (66 %)
US 77 – côte	5	4 (94 %)
US 77 – fémur	5	5 (95 %)
US 100 – côte	5	4 (93 %)
US 100 – fémur	5	4 (91 %)

Tableau 5. Comparaison des OHI qualitatifs et quantitatifs obtenus à partir des coupes virtuelles. Les différences sont présentées en gras rouge / *Comparison of the quantitative and qualitative OHI scores as obtained through virtual cross-sections. Differences appear in red bold*

Discussion

Apports et limites des deux méthodes

Dans le cadre de la présente étude, il a été possible d'évaluer certaines facettes de la diagenèse osseuse par le biais de la micro-tomographie. Ce résultat prolonge ceux de précédents travaux, qui avaient démontré le potentiel de cette méthode pour étudier la dégradation du tissu osseux (Dal Sasso et al., 2014 ; Booth et al., 2016). Cette approche virtuelle permet notamment d'évaluer de manière fiable l'OHI (scores concordant avec ceux obtenus à partir de l'examen de lames minces) et peut donc avantageusement se substituer à l'histologie pour les études dont la finalité est de procéder à la classification de vestiges osseux selon cet index. Elle apparaît d'autant plus indiquée qu'elle permet un examen de diverses coupes transversales et longitudinales (et donc de s'assurer de l'homogénéité de conservation de l'os), là où l'histologie est restreinte à l'examen d'une infime partie de l'os. Elle permet ainsi une cartographie beaucoup plus fine des zones de dégradation générales et leur visualisation tridimensionnelle. Pour autant, sa résolution numérique nettement inférieure à celle de l'histologie fait qu'elle ne permet pas d'identifier les micro-structures osseuses et dégradations spécifiques à l'échelle

de ces dernières. Ainsi, la micro-tomographie n'apparaît pas indiquée pour les études visant à caractériser la diagenèse à un tel niveau de détail, qui devront préférer l'approche histologique. De plus, à long terme, la micro-tomographie pourrait endommager l'échantillon scanné, et notamment impacter la préservation de l'ADN (Booth et al., 2016 ; Evin et al., 2020). L'histologie, en dépit de son caractère invasif, conserve par ailleurs certains avantages non négligeables. Outre sa meilleure résolution, la production de support physiques (lames minces) permet de mener des analyses complémentaires, notamment un examen microscopique en lumière polarisée, qui renseigne sur la raréfaction de l'os en collagène (Jans et al., 2002), ou au MEB-EDS (Energy-dispersive X-ray spectroscopy), permettant de cartographier la composition élémentaire des vestiges (Turner-Walker et Syversen, 2002).

Les deux méthodes permettent donc d'étudier la diagenèse osseuse, mais présentent chacune leurs avantages et leurs limites (tableau 6). Le choix pour l'une ou l'autre doit ainsi être dicté par les objectifs de l'étude et la nature des vestiges investigués. En effet, si l'objet d'étude est ancien et fragile, une méthode non invasive sera sans doute à privilégier. Au contraire, si la problématique de l'étude concerne la dégradation des composants osseux et que l'échantillon peut faire l'objet d'analyses invasives, l'histologie est probablement plus avantageuse. L'application conjointe des méthodes peut, selon les objectifs, être pertinente compte tenu de leur complémentarité en termes d'informations fournies.

Les deux méthodes d'un point de vue technique

Au-delà des strictes considérations scientifiques décrites ci-dessus, des facteurs techniques et/ou financiers peuvent également influencer le choix de la méthode retenue. S'il est difficile de proposer une synthèse détaillée de celles-ci, tant les équipements des aires techniques, moyens informatiques et pratiques de facturations diffèrent d'un laboratoire à un autre, nous fournissons ici, à titre indicatif, quelques informations relatives à l'étude menée sur le matériel squelette du cimetière St. Anne (tableau 6). D'un point de vue financier tout d'abord, la réalisation d'une lame mince, en

	Micro-tomographie	Histologie
+	Non destructrice Visualisation de la diagenèse sur tout l'échantillon Vues 3D, longitudinales et transversales	Résolution plus fine Permet d'identifier le type de dégradation osseuse Permet d'autres observations : lumière polarisée et MEB
-	Résolution limitée N'identifie pas la microstructure osseuse Instabilité du flux de rayons X	Destructrice Visualisation restreinte à une petite zone de l'os (autour de 80 µm) correspondant à la lame mince Possibles problèmes dans la réalisation de la lame mince
Aspect technique	1,5 h/scan 50 €/scan	Lame mince (production en série) = 3 jours 13 €/lame mince

Tableau 6. Avantages (+), limites (-) et aspects techniques de la micro-tomographie et de l'histologie dans le cas d'étude de la diagenèse osseuse / *Advantages (+), limitations (-) and technical issues of micro-tomography and histology for the study of bone diagenesis*

prenant en compte les consommables et fournitures, est estimé à 13 €. Le tarif d'une acquisition micro-tomographique est quant à lui de l'ordre de 50 € au pôle micro-tomographique de PACEA (sachant qu'il est parfois possible, de scanner conjointement plusieurs échantillons). Le temps d'acquisition est relativement réduit (environ 1,5 h), tandis que la réalisation de lames minces nécessite environ trois jours en raison des temps de séchage des résines. Les lames minces peuvent cependant être effectuées en série. Le temps des traitements des données, quant à lui, varie grandement selon l'expérience du chercheur et les analyses réalisées, que ce soit en histologie ou en micro-tomographie.

Quantification du pourcentage d'os préservé

Les données quantitatives obtenues à partir des images produites par les deux méthodes étant identiques pour la grande majorité des échantillons, et les écarts entre données quantitatives et qualitatives étant relativement peu nombreux, il apparaît que la quantification par traitement d'images proposée semble être efficace. Les seules exceptions relevées entre OHI "quantitatifs" concernent des échantillons pour lesquels un souci de collage est survenu lors de la préparation des lames minces (fémur de l'US 15 et côte de l'US 37). Les discordances entre OHI "qualitatif" et OHI "quantitatif" intéressent quant à elles des échantillons pour lesquels le pourcentage d'os préservé est proche de la limite entre deux stades OHI. Pour les lames minces où un problème de mauvais collage a été rencontré au cours de leurs préparations, les scans préalables des échantillons ont permis de sauvegarder les données et de pouvoir tout de même observer leurs dégradations osseuses.

La concordance entre les résultats obtenus sur la base des deux méthodes démontre qu'il est possible d'établir un OHI à partir d'une analyse micro-tomographique. En conséquence, si le but de l'étude est de connaître l'état général de conservation interne de l'os, la micro-tomographie peut remplacer l'histologie. Elle permet une analyse non invasive et d'éviter des éventuels problèmes de préparation des lames minces qui pourraient compromettre les résultats, comme cela a été le cas pour deux échantillons sur douze dans cette étude. Cependant, un problème lors de la réalisation des lames minces peut être résolu par la création d'une nouvelle lame mince si la taille de l'échantillon le permet. Dans cette étude, cela n'a pas été possible pour une question de temps.

À la différence de l'évaluation visuelle de l'OHI, sujet à la subjectivité, la quantification de l'OHI par analyse d'images permet d'assurer une répétabilité et de se défaire des variations inter-observateurs. D'autre part, la quantification donne un pourcentage d'os préservé apportant une indication claire sur la conservation osseuse de l'échantillon sans avoir besoin de connaître la signification des scores OHI. Toutefois, pour des échantillons très bien conservés (US 77 et 100), les algorithmes Otsu cherchaient à séparer des niveaux de gris même s'ils étaient presque identiques, engendrant une mauvaise segmentation et quantification.

En conséquence, les segmentations ont dû être faites manuellement dans ces cas-là. Un approfondissement de la méthode de quantification par logiciel pourrait éventuellement permettre de trouver une solution à cet écueil.

Conclusion

L'histologie et la micro-tomographie apparaissent donc comme deux méthodes complémentaires permettant d'étudier la diagenèse osseuse. S'il a été possible de montrer qu'elles autorisent l'une et l'autre une quantification par analyses d'image, elles apportent également des données différentes et présentent chacune des avantages et des limites. En effet, la micro-tomographie, contrairement à l'histologie, ne contraint pas le chercheur à l'analyse d'une seule petite section de l'os. Elle permet d'évaluer la variabilité de la diagenèse osseuse à travers tout l'échantillon scanné. De plus, cette méthode n'est pas destructrice, en faisant une bonne option pour l'analyse d'éléments osseux très anciens et/ou fragiles qui ne peuvent pas faire l'objet d'analyse invasive. Néanmoins, l'histologie a une résolution numérique plus fine qui permet d'observer plus en détails les microstructures osseuses. De plus, les lames minces peuvent être examinées au MEB et en lumière polarisée, apportant d'autres informations sur les dégradations de l'os et du collagène. L'approche non invasive ne saurait donc totalement remplacer l'approche invasive dans toutes ses dimensions. Le choix de la méthode à utiliser doit donc être adaptée selon les spécimens étudiés, la problématique de l'étude et les moyens à disposition pour réaliser les analyses.

Remerciements

Nous remercions le Département du Patrimoine archéologique d'Urban.brussels (Service public régional Bruxelles Urbanisme et Patrimoine) pour l'accès à la collection du cimetière St. Anne de Koekelberg. Nous tenons également à remercier Mona Le Luyer et Julie Munier pour leur aide et conseils lors de la préparation des lames minces, ainsi qu'Alain Queffelec pour son aide lors des analyses archéométriques. Ce projet a été financé par Adera, le Taphonomy European Network (TaphEn: CNRS IRN 0871), the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme (794891) et l'Australian Research Council (DE210101384 à Schotsmans).

Références

- Aksoy U, Ozkayalar H, Orhan K (2020) Micro-CT in Comparison with Histology in the Qualitative Assessment of Bone and Pathologies. In: Orhan K (ed) *Micro-computed Tomography (micro-CT) in Medicine and Engineering*. Springer, Switzerland AG, pp 109-124
- Bancroft JD, Stevens A (1996) *Theory and practice of histological techniques*, Churchill Livingstone, New York, 725 p
- Bell LS, Boyde A, Jones SJ (1991) Diagenetic Alteration to Teeth In Situ Illustrated by Backscattered Electron Imaging. *Scanning* 13:173-183

- Boca C, Truyen B, Henin L et al (2017) Comparison of micro-CT imaging and histology for approximal caries detection. *Scientific Reports* 7:6680 [<https://doi.org/10.1038/s41598-017-06735-6>]
- Booth TJ (2017) The Rot Sets in Low-Powered Microscopic Investigation of Taphonomic Changes to Bone Microstructure and its Application to Funerary Contexts. In: Errickson D, Thompson T (eds) *Human Remains: Another Dimension*. Elsevier, London, pp 7-24
- Booth TJ, Redfern RC, Gowland RL (2016) Immaculate conceptions: Micro-CT analysis of diagenesis in Romano-British infant skeleton. *Journal of Archaeological Science* 74:124-134 [<http://dx.doi.org/10.1016/j.jas.2016.08.007>]
- Brönnimann D, Portmann C, Pichler SL et al (2018) Contextualising the dead – Combining geoarchaeology and osteo-anthropology in a new multi-focus approach in bone histotaphonomy. *Journal of Archaeological Science* 98:45-58 [<https://doi.org/10.1016/j.jas.2018.08.005>]
- Caruso V, Marinoni N, Diella V et al (2020) Bone diagenesis in archaeological and contemporary human remains: an investigation of bone 3D microstructure and mineral-chemical assessment. *Archaeological and Anthropological Sciences* 12:162 [<https://doi.org/10.1007/s12520-020-01090-6>]
- Caruso V, Marinoni N, Diella V et al (2021) Diagenesis of juvenile skeletal remains: A multimodal and multiscale approach to examine the post-mortem decay of children's bones. *Journal of Archaeological Science* 135:105477 [<https://doi.org/10.1016/j.jas.2021.105477>]
- Claes B, Gautier P, Ghesquiere V et al (2016) Opgravingsrapport 'rue Emile Sergijsels 8 à 1081 Koekelberg'
- Dal Sasso G, Maritan L, Usai D et al (2014) Bone diagenesis at the micro-scale: Bone alteration patterns during multiple burial phases at Al Khiday (Khartoum, Sudan) between the Early Holocene and the II century AD. *Paleogeography, Paleoclimatology, Palaeoecology* 416:30-42 [<http://dx.doi.org/10.1016/j.palaeo.2014.06.034>]
- Duffet Carlson KS, Mandl K, McCall A et al (2022) 3D visualization of bioerosion in archaeological bone. *Journal of Archaeological Science* 145646:105 [<https://doi.org/10.1016/j.jas.2022.105646>]
- Evin A, Lebrun R, Durocher M et al (2020) Building three-dimensional models before destructive sampling of bioarchaeological remains: a comment to Pálsdóttir et al. (2019). *Royal Society Open Science* 7:192034 [<http://dx.doi.org/10.1098/rsos.192034>]
- Hackett CJ (1981) Microscopical Focal Destruction (Tunnels) in Exhumed Human Bones. *Medicine, Science and the Law* 21(4): 243-265
- Hedges REM, Millard A, Pike AWG (1995) Measurements and Relationships of Diagenetic Alteration of Bone from Three Archaeological Sites. *Journal of Archaeological Science* 22: 201-209
- Jans MME, Kars H, Nielsen-Marsh CM et al (2002) In Situ preservation of archaeological bone: a histological study within a multidisciplinary approach. *Archaeometry* 44(3):343-352
- Jans MME, Nielsen-Marsh CM, Smith CI et al (2004) Characterisation of microbial attack on archaeological bone. *Journal of Archaeological Science* 31:87-95 [<https://doi.org/10.1016/j.jas.2003.07.007>]
- Kendall C, Eriksen AM, Kontopoulos I et al (2018) Diagenesis of archaeological bone and tooth. *Paleogeography, Paleoclimatology, Palaeoecology* 491:21-37 [<https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2017.11.041>]
- Mandl K, Duffet Carlson KS, Brönnimann D et al (2022) Substantiating microCT for diagnosing bioerosion in archaeological bone using a new Virtual Histological Index (VHI). *Archaeological and Anthropological Sciences* 14:103-117 [<https://doi.org/10.1007/s12520-022-01563-w>]
- Millard A (2001) The deterioration of bone. In: Borthwell D (ed) *Handbook of Archaeological Sciences*. John Wiley & Sons, Chichester, pp 637-647
- Miszekiewicz JJ (2015) Histology of a Harris line in a human distal tibia. *Journal of Bone and Mineral Metabolism* 33(4):179-192 [<https://doi.org/10.1007/s00774-014-0644-0>]
- Miszekiewicz JJ (2016) Investigating histomorphometric relationships at the human femoral midshaft in a biomechanical context. *Journal of bone and mineral metabolism* 34:179-192 [<https://doi.org/10.1007/s00774-015-0652-8>]
- Nielsen-Marsh CM, Smith CI, Jans MME et al (2007) Bone diagenesis in the European Holocene II: taphonomic and environmental considerations. *Journal of Archaeological Science* 34:1523-1531 [<https://doi.org/10.1016/j.jas.2006.11.012>]
- Object Research Systems (ORS) Inc I (2020) Dragonfly, <http://www.theobjects.com/dragonfly> [<https://doi.org/10.1017/S1431927621004086>]
- Ruhli FJ, Kuhn G, Evison R et al (2007) Diagnostic of micro-CT in comparison with histology in the qualitative assessment of historical human skull bone pathologies. *American Journal of Biological Anthropology* 133:1099-1111 [<https://doi.org/10.1002/ajpa.20611>]
- Simpson R, Varney TL, Coulthard I et al (2021) Insights into biogenic and diagenetic lead exposure in experimentally altered modern and archaeological bone: Synchrotron radiation X-ray fluorescence imaging. *Science of the Total Environment* 790: 148144 [<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148144>]
- Smith CI, Nielsen-Marsh CM, Jans MME et al (2007) Bone diagenesis in the European Holocene I: patterns and mechanisms. *Journal of Archaeological Science* 34:1485-1493 [<https://doi.org/10.1016/j.jas.2006.11.006>]
- Turner-Walker G, Syversen U (2002) Quantifying histological changes in archaeological bones using BSE-SEM image analysis. *Archaeometry* 44(3):461-468
- Van de Vijver K (2020) Onderzoek van de menselijke resten gevonden tijdens de opgraving aan de Rue Emile Sergijsels 8 te koekelberg (unpublished report)
- Wedl C (1864) Über einen Zahnbein und Knochen keimenden Pilz Sitzungsbericht der Mathematische Naturwissenschaftliche Classe der Kaiserliche Akademie der Wissenschaften Wien 50:171-193
- Yang D, Uno KT, Souron A et al (2020) Intra-tooth stable isotope profiles in warthog canines and third molars: Implications for paleoenvironmental reconstructions. *Chemical Geology* 554: 119799 [<https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2020.119799>]



BMSAP

Bulletins et Mémoires de la Société d'Anthropologie de Paris