

UNIVERSITÉ DE LILLE
DEPARTEMENT FACULTAIRE UFR3S-ODONTOLOGIE

Année de soutenance : 2026

N° :

THÈSE POUR LE
DIPLOME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement le 07 janvier 2026

Par Yacine CHARKAOUI

D'une dent clinique à l'observation histologique : mise en place d'un protocole pour la réalisation de coupes dentaires à des fins pédagogiques

JURY

Président : Monsieur le Professeur Thomas COLARD
Assesseurs : Madame le Docteur Mathilde SAVIGNAT
Monsieur le Docteur Xavier COUTEL
Monsieur le Docteur Maxime BEDEZ
Membre invité Monsieur Nicolas BERTHEAUME

Président de l'Université :	Pr. R. BORDET
Directrice Générale des Services de l'Université :	A.V. CHIRIS FABRE
Doyen UFR3S :	Pr. D. LACROIX
Directrice des Services d'Appui UFR3S :	A. PACAUD
Vice doyen département facultaire UFR3S-Odontologie :Pr. C. DELFOSSE	
Responsable des Services :	L. KORAÏCHI
Responsable de la Scolarité :	V MAURIAUCOURT

PERSONNEL ENSEIGNANT DE LA FACULTE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

K. AGOSSA	Parodontologie
P. BOITELLE	Responsable du département de Prothèse
T. COLARD	Fonction-Dysfonction, Imagerie, Biomatériaux
C. DELFOSSE	Vice doyen du département UFR3S-Odontologie Odontologie Pédiatrique Responsable du département d'Orthopédie dento-faciale
M. DEHURTEVENT	Co-responsable du département de Prothèses
B LOUVET	Chirurgie orale (Professeur des universités associé)
T. MARQUILLIER	Odontologie Pédiatrique
L ROBBERECHT	Responsable du Département de Dentisterie Restauratrice Endodontie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

A. BLAIZOT	Prévention, Epidémiologie, Économie de la Santé, Odontologie Légale
F. BOSCHIN	Parodontologie
F CATHALA	Prévention, Epidémiologie, Economie de la Santé, Odontologie Légale (maître de conférences des Universités associé)
C. CATTEAU	Responsable du Département de Prévention, Épidémiologie, Économie de la Santé, Odontologie Légale.
X. COUTEL	Biologie Orale
A. de BROUCKER	Fonction-Dysfonction, Imagerie, Biomatériaux
C. DENIS	Co-responsable du département de Prothèses
F. DESCAMP	Prothèses
M. DUBAR	Responsable du Département de Parodontologie
A. GAMBIEZ	Dentisterie Restauratrice Endodontie
F. GRAUX	Prothèses
M. LINEZ	Dentisterie Restauratrice Endodontie
G. MAYER	Prothèses
L. NAWROCKI	Responsable du Département de Chirurgie Orale Chef du Service d'Odontologie A. Caumartin - CHU Lille
C. OLEJNIK	Responsable du Département de Biologie Orale
P OLEKSIAK	Dentisterie Restauratrice Endodontie (maître de conférences des Universités associé)
H PERSOON	Dentisterie Restauratrice Endodontie (Maître de conférences des Universités associé)
C PRUVOST	Prévention, Epidémiologie, Economie de la Santé, Odontologie Légale (maître de conférences des Universités associé)
P. ROCHER	Fonction-Dysfonction, Imagerie, Biomatériaux
M. SAVIGNAT	Responsable du Département de Fonction-Dysfonction, Imagerie, Biomatériaux
T. TRENTESAUX	Responsable du Département d'Odontologie Pédiatrique
J. VANDOMME	Prothèses
R. WAKAM KOUAM	Prothèses

PRATICIEN HOSPITALIER et UNIVERSITAIRE

M BEDEZ	Biologie Orale
---------	----------------

Réglementation de présentation du mémoire de Thèse

Par délibération en date du 29 octobre 1998, le Conseil de la Faculté de Chirurgie Dentaire de l’Université de Lille a décidé que les opinions émises dans le contenu et les dédicaces des mémoires soutenus devant jury doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu’ainsi aucune approbation ni improbation ne leur est donnée.

Remerciements

Aux membres du jury

Monsieur le Professeur Thomas COLARD

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

Section Réhabilitation Orale

Département Fonction/Dysfonction, Imagerie et Biomatériaux

Docteur en Chirurgie Dentaire (Université de Lille)

Docteur au Muséum National d'Histoire Naturelle en Anthropologie Biologique (MNHN, Paris)
Habilitation à Diriger des Recherches

Master 1 – Biologie-Santé (Université de Lille)

Master 2 – Évolution Humaine (MNHN, Paris)

DIU Orthopédie Dento-Cranio- Maxillo-Faciale (Sorbonne Université, Paris)

Chargé de mission Recherche

Vous m'avez fait l'honneur d'accepter de présider la soutenance de ce travail de thèse, je vous en suis très reconnaissant. Je vous prie de croire à la grande estime que j'ai de votre travail et votre rigueur.

En espérant que ce travail soit à la hauteur de vos attentes.

Monsieur le Docteur Maxime BEDEZ

Praticien Hospitalier Universitaire

Section Chirurgie Orale, Parodontologie, Biologie Orale

Département Biologie Orale

Docteur en Chirurgie Dentaire

Spécialiste qualifié en Médecine Bucco-Dentaire

Master II Biologie et Santé – parcours « Immunité, Inflammation, Infection »
Université de Lille

Certificat d'Études Supérieures Universitaires de Prothèse Fixée – Université
d'Aix-Marseille

Je tiens à vous remercier pour l'aide que vous m'avez apporté durant tout ce travail de thèse. Tant lorsque vous m'avez fait confiance en me proposant ce sujet que par la patience dont vous avez fait preuve durant ces deux dernières années. Votre disponibilité et votre savoir m'ont été précieux.

J'espère sincèrement avoir été à la hauteur de vos attentes.

Monsieur le Docteur Xavier COUTEL

Maître de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier
Section Chirurgie Orale, Parodontologie, Biologie Orale
Département Biologie Orale

Docteur en Chirurgie dentaire
Docteur de l'Université de Lille (Biologie Orale)

Master « Sciences, Technologies, Santé mention « Biologie cellulaire, Physiologie et Pathologies » - Spécialité « Biologie, Biomorphologie, Bio ingénierie du squelette » (Paris Descartes)

C'est sans hésitation que vous avez accepté de siéger dans mon jury, je vous en remercie. Vos enseignements et conseils m'ont été d'une grande aide durant tout ce cursus.

Madame le Docteur Mathilde SAVIGNAT

Maître de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier

Section Réhabilitation Orale

Département Sciences Anatomiques

Docteur en Chirurgie Dentaire

Docteur en Odontologie de l'Université de Lille2

Master Recherche Biologie Santé – Spécialité Physiopathologie et Neurosciences

Responsable du Département des Sciences Anatomiques

Chargée de mission PASS - LAS

Je vous remercie d'avoir accepté de faire partie de mon jury. Même si cela remonte il y a un an, c'était un plaisir de partager la vacation des urgences avec vous. Merci pour votre bienveillance et disponibilité.

Table des matières

NOTE D'INFORMATION	13
TABLES DES ABREVIATIONS	15
INTRODUCTION.....	16
MATERIEL ET METHODE	19
A. CADRE JURIDIQUE.....	19
1. <i>Recueil d'organe dentaire sans collecte de données</i>	19
2. <i>Recueil d'organe dentaire avec collecte de données mais sans partage</i>	20
3. <i>Recueil d'organe dentaire avec collecte de données et partage.....</i>	21
4. <i>Choix du mode de recueil pour notre travail.....</i>	21
B. COLLECTE DES ORGANES DENTAIRES	22
1. <i>Critères d'inclusion et d'exclusion.....</i>	22
2. <i>Méthodes de désinfection.....</i>	22
C. PROTOCOLE D'INCLUSION EN RESINE	23
D. PROTOCOLE DE PRODUCTION DES LAMES.....	29
E. PROTOCOLE D'OBSERVATION ET DE NUMERISATION DES LAMES	32
F. CYTOMINE	37
RESULTATS	40
A. CONSTITUTION DE L'ECHANTILLON	40
B. REALISATION DES COUPES HISTOLOGIQUES	41
C. NUMERISATION DES LAMES	41
D. INTEGRATION PEDAGOGIQUE	42
DISCUSSION	45
A. QUALITE TECHNIQUE DES LAMES	45
B. COMPARAISON AVEC LA LITTERATURE	45
C. NUMERISATION DES ECHANTILLONS	46
D. PERSPECTIVES PEDAGOGIQUES	47
E. CHRONOLOGIE DU TRAVAIL DE RECHERCHE	48
CONCLUSION.....	49
BIBLIOGRAPHIE	51
TABLE DES FIGURES.....	53
TABLE DES TABLEAUX.....	55
ANNEXES.....	56

A. ANNEXE 1	56
B. ANNEXE 2	58
C. ANNEXE 3	59

Note d'information

Cette thèse présente de nombreux protocoles pour la réalisation de numérisations de coupes histologiques à partir de la collecte d'organes dentaires.



Chaque protocole est accompagné de l'icône pour mieux signer ces éléments. Tous les protocoles sont disponibles en annexe.

Les contributions de chaque auteur ont été précisées selon la taxonomie CRediT (Contributor Roles Taxonomy) afin de refléter de manière transparente l'implication de chacun dans ce travail, par ordre alphabétique :

- Brigitte ALLIOT LICHT : *Conceptualization ; Methodology ; Resources* ;
- Maxime BEDEZ : *Writing – Review & Editing ; Conceptualization ; Methodology ; Validation ; Resources ; Supervision ; Project administration ; Funding acquisition* ;
- Nicolas BERTHEAUME : *Methodology ; Resources ; Investigation* ;
- Antonino BONGIOVANNI : *Methodology ; Resources ; Investigation* ;
- Sarah GABUT : *Methodology ; Resources ; Investigation* ;
- Louise CALMELET : *Methodology* ;
- Yacine CHARKAOUI : *Methodology ; Formal analysis ; Investigation ; Data curation ; Writing – Original Draft ; Visualization* ;
- Lisa COLAS : *Resources* ;
- Alexandre GUILLE : *Methodology ; Resources ; Investigation* ;
- Kenza HAMOUD : *Resources* ;
- Yassine JARMOUNI : *Methodology ; Resources ; Investigation* ;
- Sara MOHAND AMER : *Methodology ; Resources ; Investigation* ;
- Samir MANKAA : *Resources* ;
- Meryem TARDIVEL : *Methodology ; Resources ; Investigation*.

Le Dr Maxime BEDEZ a assuré la supervision et la coordination du projet. Il a contribué à la conceptualisation et à la mise au point de la méthodologie, ainsi qu'à la validation des résultats. Il a également fourni les ressources nécessaires à la réalisation du travail, participé à la révision et à l'édition du manuscrit, et assuré la gestion du projet ainsi que l'obtention des financements.

Yacine CHARKAOUI a contribué à l'élaboration et la conceptualisation de la méthodologie, à la réalisation des essais et des protocoles, ainsi qu'à la gestion des données. Il a rédigé le manuscrit et a participé à une veille des informations concernant ce projet.

Le Pr. Brigitte ALLIOT LICHT a apporté des orientations essentielles concernant l'utilisation de l'outil Cytomine, en facilitant son accès et en participant à ses premières mises en œuvre ouvrant la voie à ce projet de thèse.

Nicolas BERTHEAUME a effectué plusieurs manipulations, dont l'inclusion des échantillons dentaires, au sein du MABLlab et a activement participé à l'élaboration du protocole expérimental, apportant une expertise technique déterminante pour la réussite du projet.

Alexandre GUILLE a complété la préparation des échantillons dentaires dans son laboratoire, contribuant ainsi de manière essentielle à la réalisation des lames dentaires. Cela comprend la coupe fine, le polissage et la mise sur lame.

L'équipe du BiCeL, comprenant Meryem TARDIVEL , Antonino BONGIOVANNI , Sara GABUT et Yassine JARMOUNI, a assuré la numérisation des lames et participé à la création des premiers porte-lames, contribuant de façon majeure à la mise en place de l'infrastructure technique nécessaire à la numérisation à haute résolution.

Louise CALMELET a permis de mettre en place le protocole juridique relatif à la récupération des dents, grâce à de nombreux échanges, facilitant ainsi la formalisation et la validation du cadre légal nécessaire à la mise en place du protocole.

Sara MOHAND AMER a contribué à la conceptualisation et à la réalisation des supports destinés à la numérisation des lames, notamment par la conception et la fabrication via une imprimante 3D.

Plusieurs chirurgiens-dentistes, dont les Dr Lisa COLAS , Kenza HAMOUD et Samir MANKAA ont contribué à la récupération d'échantillons dentaires au sein de leur cabinet, permettant ainsi de constituer la base matérielle indispensable à la réalisation du protocole et au déroulement du projet.

Les travaux présentés dans cette thèse ont été soutenus financièrement. Le financement a été assuré par l'URF3S dans le cadre d'un appel à projet « pédagogie » permettant la réalisation des lames et la numérisation de celles-ci.

Tables des abréviations

CNIL : commission nationale de l'informatique et des libertés

CSP : code de santé publique

DPO : délégué à la protection des données

EDTA : acide éthylène diamine tétra-acétique

NaOCl : hypochlorite de Sodium

PMMA : polyméthacrylate de méthyle

RGPD : règlement général sur la protection des données

TP : travaux pratiques

US : ultrasons

Introduction

D'après le dictionnaire médical et la littérature scientifique internationale, l'histologie désigne « l'étude des tissus biologiques » [1]. L'outil d'analyse principal est le microscope, grâce auquel il est possible d'étudier des « coupes » histologiques, soit sur des biopsies, soit à partir de pièces opératoires [2]. De nos jours, l'analyse histologique peut nous aiguiller sur des informations précieuses. Effectivement, par exemple, l'analyse d'un échantillon dentaire peut nous indiquer des données comme l'âge de la personne et le sexe [3]. L'histologie de l'organe dentaire est également un élément d'identification à travers l'odontologie médico-légale [4].

À la bataille de Castillon en 1453, le corps mutilé de John Talbot, célèbre capitaine anglais, fut reconnu par son héraut personnel. Celui-ci repéra l'absence d'une molaire supérieure gauche qu'il savait manquante chez son maître, et déclara : « Monseigneur, mon maître ». Ce cas est considéré comme l'une des premières reconnaissances documentées avec la dentition en tant qu'outil médico-légal [5].

Dès la première année, l'histologie est enseignée à hauteur de 10 heures à la faculté de Médecine de Lille [6]. On y retrouve l'étude des tissus conjonctifs, épithéliaux, du sang ainsi que l'embryogénèse. À la faculté de chirurgie dentaire de Lille, des cours magistraux et des enseignements dirigés en deuxième année sont enseignés à hauteur de 48 heures [7]. L'étudiant pourra découvrir notamment l'émail, la dentine et le cément. Ces cours, axés sur l'organe dentaire et chaque structure le composant, permettent de compléter les enseignements dispensés lors de la première année en embryologie orale.

L'intérêt premier de ces enseignements est de comprendre la genèse et l'organisation structurelle des éléments, type émail, dentine, cément, qui composent la dent [8]. De plus, cela permet d'appréhender l'anatomie dentaire et de faciliter la prise en charge des soins conservateurs et chirurgicaux.

En outre, Hasan SM *et al.* (2024), considère que « l'intégration de l'histologie orale dans les disciplines cliniques permet de développer une compréhension approfondie et une meilleure prise de décision thérapeutique. » [9].

Cette discipline ne se limite pas à un simple apprentissage théorique : elle sert de base à de nombreuses spécialités comme la parodontologie (elle permet de vérifier des résultats lors de procédures de régénération orale et parodontale et

est d'une importance capitale pour valider les protocoles [10]), l'endodontie ou la chirurgie orale. Maîtriser l'histologie permet d'établir un lien clair entre les aspects biologiques, morphologiques et cliniques. Elle aide à mieux analyser les signes observés en bouche, à poser un diagnostic précis et à choisir un traitement adapté [9]. C'est aussi une matière qui développe un regard plus fin : elle apprend à observer, à comparer, à raisonner à partir d'images, ce qui s'applique ensuite dans de nombreuses situations cliniques. Dans le contexte actuel où les outils pédagogiques évoluent, il est important de proposer des supports visuels modernes et accessibles, pour redonner du sens à cette discipline et renforcer son impact dans la formation.

L'évolution des pratiques pédagogiques en santé, et notamment dans l'enseignement dentaire, pousse à repenser les supports utilisés pour transmettre les connaissances fondamentales. Parmi elles, l'histologie occupe une place importante, mais reste une matière parfois difficile à assimiler pour les étudiants. Elle demande à la fois de la rigueur, une capacité d'abstraction, et un accès clair à l'image, ce qui n'est pas toujours évident dans les formats d'enseignement classiques. Dans l'étude réalisée par Gatt G *et al.*, il est mis en lumière que les étudiants souhaitent davantage de liberté, de supports variés, et que l'approche « *blended* » (mélange d'un suivi en présentiel et en ligne) répond mieux aux besoins actuels [11].

Aujourd'hui, les limites du microscope physique sont réelles : temps d'accès réduit, nombre d'appareils limité, manipulation guidée mais souvent trop courte, difficulté à revoir les lames en dehors des séances, lames non standardisées. Dans ce contexte, l'imagerie numérique se présente comme une solution pertinente. Elle permet un accès libre aux coupes, une navigation précise, une annotation directe, et surtout, un apprentissage en autonomie, ce qui correspond aux besoins actuels des étudiants. Cela a été traité dans l'étude de Tauber *et al.* (2021) dont l'objectif principal présenté dans l'article est d'évaluer les habitudes d'apprentissage, la préparation des étudiants et les principales difficultés rencontrées dans l'apprentissage de l'histologie à l'ère numérique. Étude comparant deux groupes, les étudiants en médecine générale et les étudiants en chirurgie dentaire [12].

C'est dans cette perspective que s'inscrit ce travail de thèse. Il a pour objectif le développement d'un **protocole complet de production d'images histologiques des tissus durs de la dent**, allant de la dent extraite jusqu'à l'obtention d'une coupe histologique numérisée, exploitable à des fins pédagogiques. Mais également de mettre en place une banque de données d'images exploitables par tous. Pour cela, plusieurs étapes ont été nécessaires : la définition d'un cadre de collecte conforme à la réglementation, l'élaboration d'une technique de coupe adaptée aux tissus dentaires, la numérisation des échantillons obtenus, et enfin leur intégration sur une plateforme d'enseignement collaboratif.

Matériel et méthode

A. Cadre juridique

Le recueil des organes humains est encadré par la loi. Toutefois, il existe un flou juridique quant à la collecte des dents. Nous avons fait appel à la déléguée à la protection des données (DPO) du CHU de Lille, M^{me} Louise CALMELET avec laquelle nous avons eu plusieurs entretiens qui nous ont permis de dégager trois protocoles de recueil [13].

1. Recueil d'organe dentaire sans collecte de données

Le Code de Santé Publique (CSP) met à disposition deux articles qui légifèrent le prélèvement, la collecte et l'utilisation d'éléments du corps humain [14,15]. Ceux-ci doivent être soumis à la **délivrance de l'information**, ainsi qu'au **consentement du patient** ainsi que le suivi d'un protocole en accord avec le DPO.

Il existe une exception à cette règle pour quatre produits du corps humain : les cheveux, les ongles, les poils et les **dents**. Pour ceux-là, lorsqu'aucune autre donnée n'est recueillie, **l'information et le consentement ne sont pas nécessaires**.

Tableau 1 : Articles du code de santé publique qui légifèrent le prélèvement, la collecte et l'utilisation d'éléments du corps humain

<i>Article L1211-2 du CSP</i>
« Le prélèvement d'éléments du corps humain et la collecte de ses produits ne peuvent être pratiqués sans le consentement préalable du donneur. Ce consentement est révocable à tout moment. »
« L'utilisation d'éléments et de produits du corps humain à une fin médicale ou scientifique autre que celle pour laquelle ils ont été prélevés ou collectés est possible, sauf opposition exprimée par la personne sur laquelle a été opéré ce prélèvement ou cette collecte, dûment informée au préalable de cette autre fin. »
<i>Article R1211-49 du CSP</i>
« Ne sont pas soumis aux dispositions du présent être les produits du corps humain désignés ci-après : 1° Les cheveux ; 2° Les ongles ; 3° Les poils ; 4° Les dents. »

On peut donc comprendre ici que, si je ne collecte que la dent et aucune autre information du dossier médical, je ne suis pas tenu de recueillir le consentement et de donner une information au patient.

2. Recueil d'organe dentaire avec collecte de données mais sans partage

Dans le cas d'un recueil nécessitant une **collecte de métadonnées** (âge, sexe, numéro de dent, raison d'extraction...), il est nécessaire de **délivrer l'information** au patient et de recueillir son **consentement**, en accord avec le DPO de l'université. Un enregistrement du projet sera alors nécessaire, ainsi qu'une déclaration sur un registre auprès de l'université et du CHU. De plus, une **contractualisation**¹ doit être alors mise en place entre l'université et le CHU.

Le patient doit être informé de l'inclusion de l'échantillon dans le cadre du recueil et de tout traitement ayant effet sur ses données si auquel cas il y en avait un. Un exemple de note d'information pouvant être proposé au patient se trouve en annexe (Annexe 1). Son consentement doit être recueilli par écrit (Annexe 2).

De plus, les données doivent être **anonymisées** et regroupées dans un **fichier protégé**.

On peut donc comprendre ici que, si je collecte la dent et des informations du dossier médical, je suis tenu de recueillir le consentement, de délivrer une information au patient et de contractualiser avec le service hospitalier et l'université pour informer les institutions.

¹ *Contractualisation : mise en place d'un contrat entre les parties concernées pour établir le statut des données, leur collecte, leur hébergement ainsi que leur devenir.*

3. Recueil d'organe dentaire avec collecte de données et partage

Dans le cas d'un recueil nécessitant une **collecte de métadonnées** visant à être partagées (par exemple un établissement annexe comme Cytomine), il est nécessaire de **délivrer l'information** au patient (Annexe 1), de recueillir son **consentement** (Annexe 2), mais aussi de respecter le règlement général sur la protection des données (**RGPD**), en accord avec le DPO de l'université. Un enregistrement du projet sera alors nécessaire, ainsi qu'une déclaration sur un registre auprès de l'université et du CHU. De plus, une **contractualisation** sera alors mise en place entre l'université, le CHU et l'établissement annexe support de données.

On peut donc comprendre ici que, si je collecte la dent, des informations du dossier médical et que je les partage, je suis tenu de recueillir le consentement, de délivrer une information au patient, de contractualiser avec le service hospitalier et l'université pour informer les institutions et de respecter le RGPD.

4. Choix du mode de recueil pour notre travail

Notre travail s'inscrit dans le cadre du recueil d'organes dentaires sans collecte de données pour nous permettre d'avoir plus de facilité pour la mise en place de ce travail.

B. Collecte des organes dentaires

1. Critères d'inclusion et d'exclusion

Nous avons **inclus** les **dents permanentes** de tous les groupes dentaires. Nous avons **exclu** les **dents non structurellement saines**, à savoir les dents cariées, fracturées, usées ou restaurées. En pratique, cela réunit les extractions pour raison orthodontique ou parodontale.

Le recueil des échantillons est réalisé dans l'UF de Chirurgie Orale du service d'Odontologie du CHU de Lille du 03 février 2025 au 28 février 2025. Le recueil est réalisé également dans les cabinets libéraux pour permettre d'obtenir des échantillons supplémentaires sur cette même période. L'ensemble des externes, internes, praticiens et autres encadrants ont été informés à l'aide d'une note d'information (Annexe 3).

2. Méthodes de désinfection



La collecte est réalisée à l'aide de microtube de type Eppendorf, préremplies d'une solution alcoolisée à 35°. Les opérateurs ont eu comme instructions de réaliser un nettoyage simple à l'aide d'une compresse imbibée pour limiter les substrats sanguins et salivaires pour diminuer les risques de contamination lors des prochaines étapes. Aucune information ne devait être associée au microtube de sorte à avoir un échantillon totalement anonymisé.



Figure 1 : Image d'un microtube de la marque Eppendorf [16]



L'opérateur principal doit ensuite réaliser un nettoyage et une désinfection des dents avant l'étape d'inclusion en résine. Nous avons suivi ce protocole [17] :

1. Rinçage à l'eau claire pendant 2 minutes ;
2. Trempage dans une solution de NaOCl à 2,5% pendant 25 minutes ;
3. Trempage dans l'eau pendant 5 minutes ;
4. Trempage dans l'eau pendant 5 minutes (renouvellement) ;
5. Stockage en bocal hermétique dans une solution alcoolisée à 35°.

Un nettoyage plus important peut-être réalisé dans le cas où cela serait nécessaire : tartre, présence de substrats kystiques... Pour ce faire, il est possible d'ajouter une étape supplémentaire de trempage dans de l'EDTA à 17% (acide éthylène diamine tétra-acétique) accompagnée d'ultrasons pendant trois minutes [18].

L'élimination du NaOCl se fait dans un bidon déchets liquides chimiques « solvant organique non-halogéné ». Le bidon est ensuite pris en charge par un collecteur de déchets dangereux pour évacuation et retraitement.

C. Protocole d'inclusion en résine

L'inclusion permet de créer un milieu propice à la suite des étapes de réalisation de la coupe, comme recommandé par Valentine, 2016 [19].

Nous avons choisi d'utiliser le PMMA (polyméthacrylate de méthyle) pour l'inclusion des dents, car ce matériau fait partie des produits parfaitement maîtrisés par notre partenaire, le MABLlab ULR 44490. Ce choix s'appuie sur l'expertise de Nicolas BERTHEAUME, qui utilise le PMMA dans le cadre du protocole interne du laboratoire et dispose d'une expérience approfondie de ce matériau [20]. Bien que validé lors de nos essais, Alexandre GUILLE, en charge de la réalisation des lames dentaires, a décidé d'inclure une nouvelle fois les blocs précédemment préparés pour faciliter son travail.

La difficulté se trouve dans la minéralisation naturelle de la dent. Elle nécessite des étapes de déshydratation pour permettre une diffusion du produit d'inclusion dans l'organe dentaire car celui-ci est peu perméable à l'eau. La microstructure de la dent est telle qu'une inclusion complète n'est pas possible, cela engendre alors des défauts mineurs lors de la mise sur lame, notamment des bulles d'air (Figure 2).

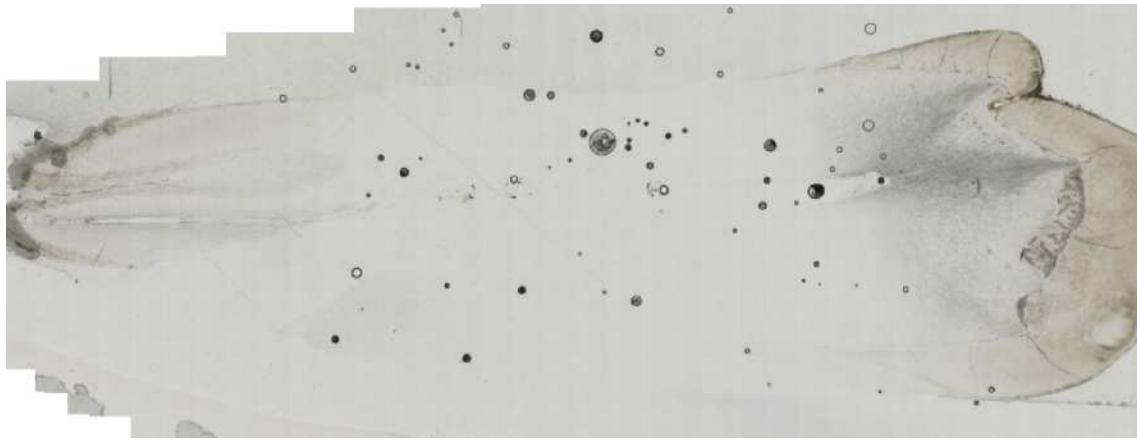


Figure 2 : Image d'une prémolaire vue au microscope optique à un grossissement x10 présentant des défauts de type bulle d'air (image personnelle)

La déshydratation est réalisée grâce à des bains d'éthanol de concentration croissante par période de 24 heures minimum à 4°C [21] :

- 1. J1 : Éthanol 70° ;
- 2. J2 : Éthanol 80° ;
- 3. J3 : Éthanol 90° ;
- 4. J4 : Éthanol 95° ;
- 5. J5 : Éthanol 100° (absolue).

Les échantillons ainsi obtenus peuvent être maintenus dans ce dernier milieu de déshydratation à 100° à moyen ou long terme sans risque de léser l'organe dentaire. C'est-à-dire que ces échantillons peuvent être maintenus durant des mois dans ce milieu (Figure 3).



Figure 3 : Photographie d'échantillons dentaire durant le protocole de déshydratation

L'élimination de l'éthanol se fait dans le bidon déchets liquides chimiques « solvant organique non-halogéné ». Le bidon est ensuite pris en charge par un collecteur de déchets dangereux pour évacuation et retraitement.

Une étape intermédiaire d'**imprégnation** est nécessaire pour que le produit (PMMA) pénètre au mieux dans l'échantillon. Cette étape dure au minimum entre 3 et 4 jours. Il est préconisé de ne pas laisser les échantillons en imprégnation trop longtemps, maximum 3 mois. Effectivement, le risque est de voir l'échantillon polymériser dans le milieu sans pouvoir l'inclure dans un second temps.

Le **choix du contenant d'inclusion** est primordial, celui-ci permettant de faciliter la suite du travail. Il est recommandé d'utiliser un moule souple, non adhésif (pour la désinsertion), parallélépipédique (pour la coupe) et permettant d'être à l'abri de l'oxygène (limiter le risque de formation de bulle).

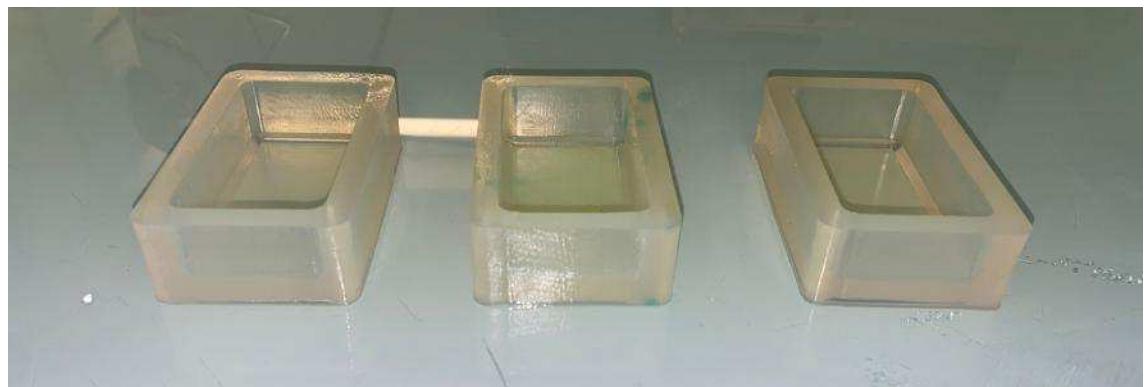


Figure 4 : Photographie d'une proposition de contenant d'inclusion

Pour notre travail, nous avons choisi de réaliser l'inclusion dans un tube Eppendorf (Figure 1) puisque nos premiers tests dans les contenants parallélépipédiques (Figure 4) n'ont pas permis d'obtenir des blocs sans bulles d'air puisqu'il nous a été impossible de les mettre sous vide.



L'**inclusion** consiste en la mise en place de la dent dans un milieu de PMMA sous vide, pendant 7 jours à 4 °C. La **polymérisation « sous vide »** est obtenue par l'utilisation d'une cloche à vide qui assure une pression négative constante de -0,97 bar. Cette pression négative permet le dégazage de la solution, pour limiter au maximum la présence de bulles dans la résine finale (Figure 5).



Figure 5 : Photographie d'une cloche sous vide reliée à un compresseur



Figure 6 : Photographie d'échantillons en inclusion dans une cloche sous vide



Figure 7 : Photographie de la cloche sous vide au réfrigérateur à 4 °C

Les blocs ainsi obtenus (Figure 8) sont désinfectés et nettoyés à l'aide d'éthanol à 70° pour éliminer les résidus de PMMA, ils peuvent être conservés dans un contenant hermétique permettant d'éviter l'émanation de produits volatils.

L'élimination du PMMA se fait dans le bidon déchets liquides chimiques « solvant organique non-halogéné ». Le bidon est ensuite pris en charge par un collecteur de déchets dangereux pour évacuation et retraitement.



Figure 8 : photographie d'échantillons dentaires polymérisés réalisés dans le laboratoire de la faculté de Lille

D. Protocole de production des lames

Cette étape permet à l'opérateur d'avoir un échantillon dégrossi et objectivé sur la zone souhaitée. Elle est essentielle et doit être réalisée par un opérateur expérimenté connaissant les besoins histologiques attendus une fois l'échantillon sur lame.

Nous avons décidé de nous rapprocher de l'atelier de litholamellage situé au SN5 sur le campus de l'Université de Lille 1 / Cité Scientifique, avec M. Alexandre GUILLE.

La section sur la zone d'intérêt se réalise à l'aide d'un disque diamanté (dans notre cas, un disque de 102 mm de diamètre, 0,3 mm d'épaisseur, monté sur une disqueuse Buehler isomet low speed saw, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA, en vitesse lente à 300 tours/min).

L'objectif final est d'obtenir un échantillon dégrossi à 1 mm d'épaisseur (Figure 9) sur la zone voulue, comme proposé dans le protocole de Silva *et al.* [21], pour permettre à l'opérateur de travailler avec un bloc d'une épaisseur de travail suffisante.



Figure 9 : photographie d'échantillons dentaires après découpe grâce à une disqueuse permettant de mettre en évidence une zone d'intérêt

La zone ciblée peut être marquée au préalable sur le bloc inclus à l'aide d'un feutre afin de communiquer avec l'opérateur réalisant cette étape. Dans le cas contraire, cela peut engendrer des défauts de visualisation sur la lame définitive comme visible sur la Figure 2.

Le protocole de mise en œuvre par l'atelier de litholamellage de l'Université de Lille est le suivant :



1. Réception de l'échantillon : inclusion puis section sur la zone d'intérêt ;
2. Élimination du surplus de résine et aplatissement grossier du côté bombé, pour obtenir un format compatible avec la mise sur lame ;
3. Polissage initial au carbure de silicium 500 sur plaque de verre pour effacer les marques laissées par la scie ;
4. Deuxième polissage au carbure de silicium 800 pour obtenir une surface bien plane, condition essentielle à l'adhérence de la lame ;
5. Séchage de l'échantillon sur chauffe-lames à 50 °C, suivi d'un nettoyage soigneux à l'éthanol ;
6. Collage sur une plaque de verre, sur la face polie au SiC 800, à l'aide d'Araldite K2020, en prenant soin de chasser un maximum de bulles (la qualité du collage dépend directement de cette étape) ;
7. Séchage à 50 °C pendant 10 heures, idéalement sous presse, pour assurer une fixation solide ;
8. Passage à la scie d'arasement, lubrifiée à l'eau + Eterna 3000, pour réduire l'épaisseur à 1 mm ;
9. Ajustement à 220 µm à l'aide d'une rectifieuse (lubrifiée à l'huile de coupe) ;
10. Nettoyage complet à l'eau savonneuse, puis double passage au bac à ultrasons (eau + éthanol) pour éliminer toute impureté ;
11. Consolidation des surfaces à l'Araldite K2020, puis séchage à 60 °C pendant 6 heures ;
12. Nouvelle réduction d'épaisseur à 200 µm à la rectifieuse ;
13. Série de polissages à la rôdeuse (plateau fonte SiC 800 + eau et dispersant), jusqu'à une épaisseur d'environ 90 µm ;
14. Finition à 80 µm sur plaque de verre, avec un dernier passage possible au SiC 1500 pour un rendu optimal ;
15. Dernier nettoyage au bac à ultrasons, séchage, puis passage à l'éthanol.
16. Collage d'une lamelle de plexiglas avec l'Araldite K2020 pour protéger la coupe et permettre l'observation ;
17. Élimination des bavures résiduelles de résine à l'aide d'un rasoir et d'un rinçage à l'éthanol.

Une attention particulière doit être accordée à réaliser l'ensemble de ces étapes dans des conditions de propretés optimales au risque d'inclure des éléments étrangers sur la lame. Les étapes successives de polissage affectent également le rendu final. L'ensemble de ces points peuvent créer un bruit de fond sur l'image finale (Figure 10).



Figure 10 : Photographie d'une zone de bruit de fond

E. Protocole d'observation et de numérisation des lames

La numérisation des lames ainsi obtenues est réalisée au plateau de microscope photonique et d'histologie BiCeL avec l'aide d'Antonino BONGIOVANNI, référent microscopie confocal et analyse d'image et Sarah Gabut référent microscopie champs large et lames virtuelles.

Pour réaliser des images d'une grande qualité, avec une haute résolution et de manière reproductible, nous avons penché sur l'utilisation d'un **Axioscan.Z1 avec module Colibri 7**, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Oberkochen, Allemagne.

Une formation pour l'utilisation autonome de l'appareil et du logiciel associé Zen a été réalisée au sein du plateau technique. [22]

La numérisation des lames nécessite qu'elles soient adaptées au support de numérisation. Les lames fournies par le laboratoire de géologie ont des dimensions non standard (30x45 mm), ce qui a demandé une étape préalable de confection de support. Dans un premier temps, ce travail a été réalisé par le BICeL à l'initiative de M^{me} Meryem TARDIVEL, ces supports sont visibles sur la Figure 11.

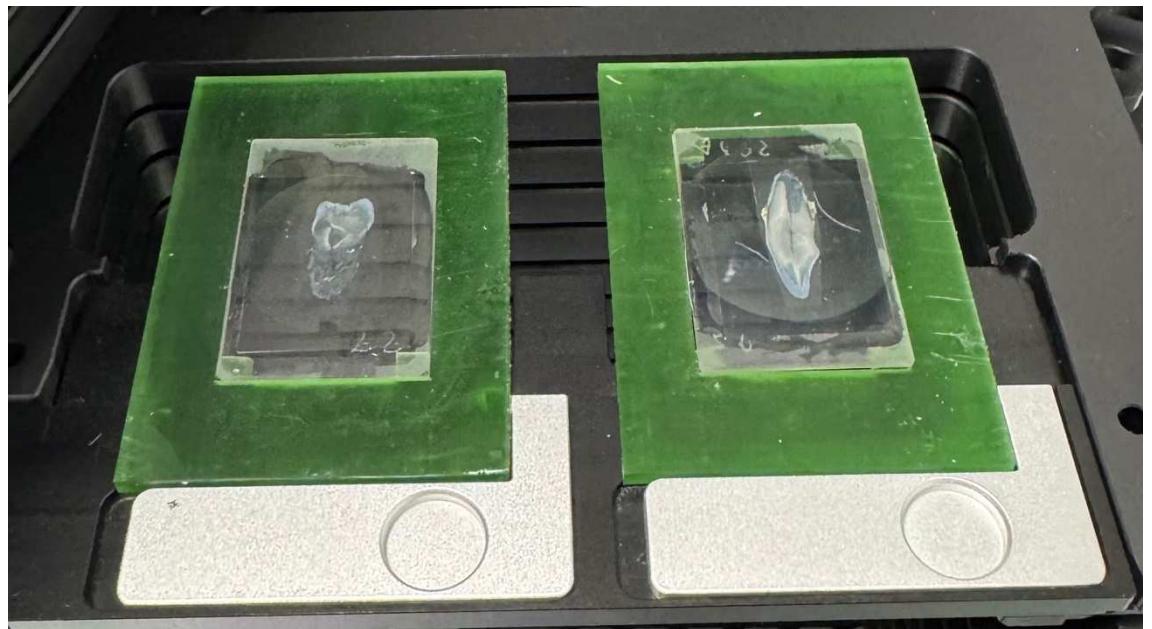


Figure 11 : Image des supports réalisés par le laboratoire BICeL

Ensuite, après des problématiques de numérisations, nous avons décidé de réaliser des nouveaux supports imprimés en 3D par M^{me} Sara MOHAND AMER au laboratoire MABLlab. Ces supports, plus fins, ont été réalisés de deux types : bleu et jaune, la différence réside dans le fait que les bleus soient plus épais. (Figure 12 et Figure 13)

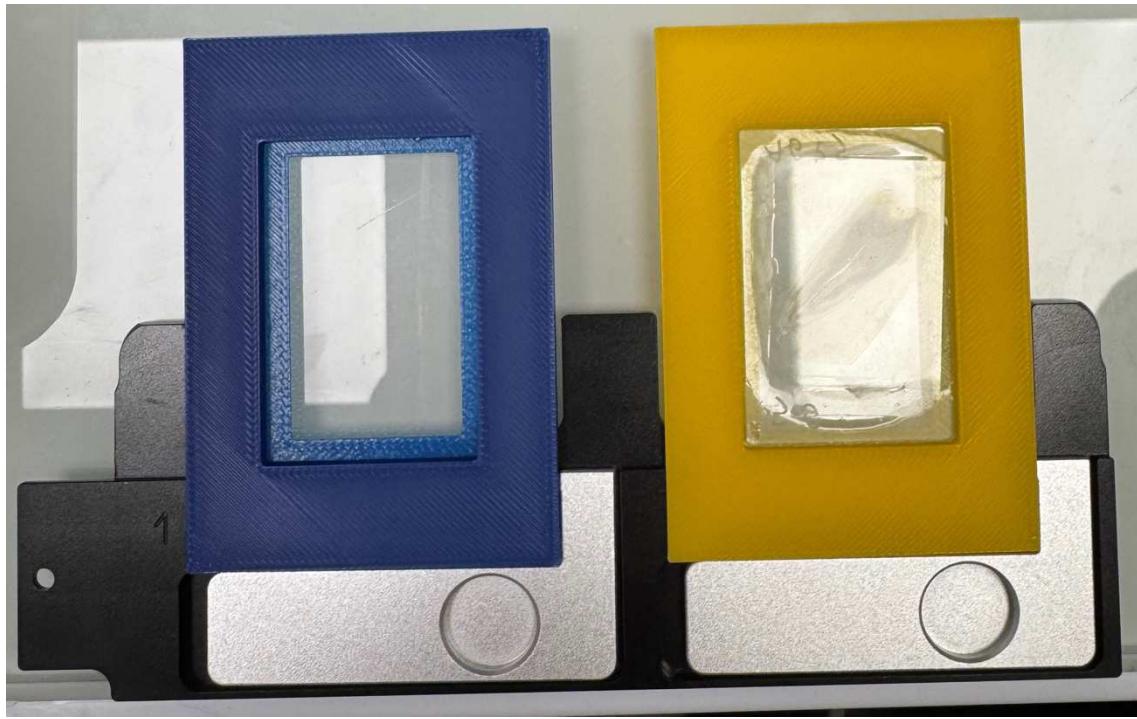


Figure 12 : Image des supports réalisés par le MABlab vue de haut



Figure 13 : Image des supports vues de côté pour apprécier la différence d'épaisseur

Pour valider les lames et les lancer la numérisation, une prévisualisation peut être réalisée au microscope optique. Les images ainsi obtenues sont visibles Figure 14.

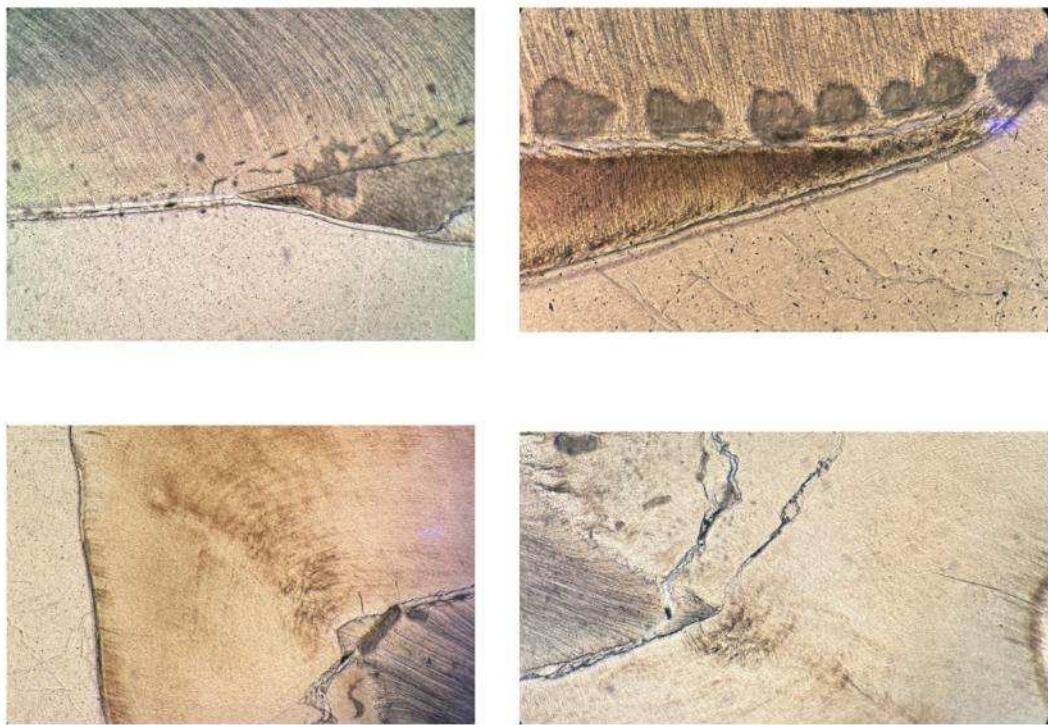


Figure 14 : Images de prévisualisation des lames dentaires obtenues par photographie à travers l'oculaire d'un microscope optique

Après avoir réalisé les réglages de l'appareil sur une lame : détermination de l'étiquette de la lame, mise au point multiples sur la lame, luminosité et sélection des échantillons, le microscope photonique réalise la numérisation de manière autonome et automatique moyennant une dizaine de minute à un grossissement x10 et une vingtaine de minute pour un grossissement x20.

Une phase de tests a été réalisée sur les échantillons tests, cela nous a permis de mettre en évidence qu'une observation à un grossissement x20 (image B sur la Figure 15) serait de meilleure qualité et permettrait une analyse plus aisée des différents éléments sur la lame.

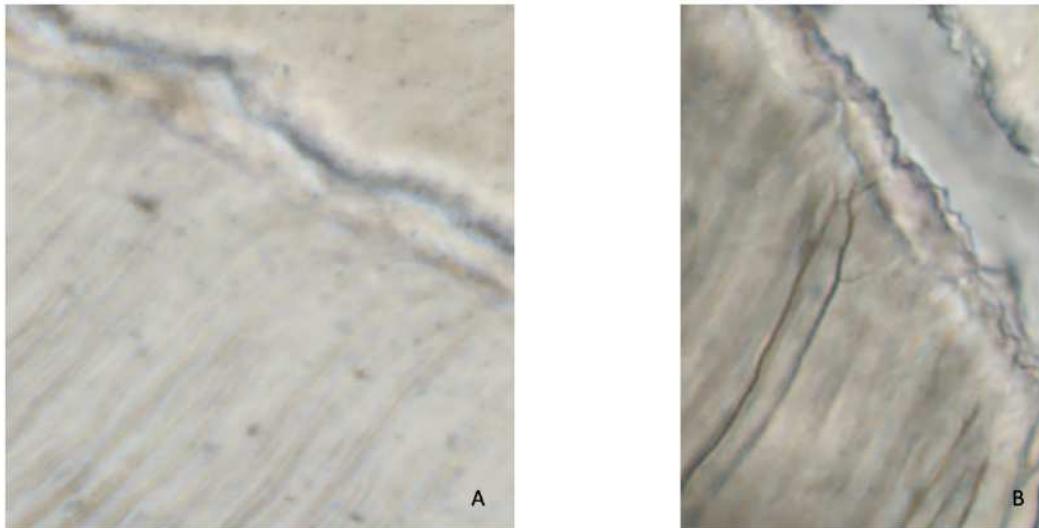


Figure 15 : Images comparatives d'une observation au microscope optique de tissus dentaires. A : Observation au grossissement x10. B : Observation au grossissement x20.

Les images obtenues à l'issue de ces opérations seront observées numériquement grâce à un microscope en ligne : Cytomine.

Il s'agit d'une application en ligne permettant l'analyse collaborative et l'exploitation d'images médicales et histologiques.

L'importation d'images histologiques dentaires permettra de créer une banque de données communes à tous les étudiants en chirurgie dentaire de France. Cela sera également un outil pédagogique proposé à tous les enseignants de biologie orale de France.

L'outil numérique permettra un ensemble de fonctionnalités :

1. Observation de tout ou partie des coupes histologiques ;
2. Réalisation d'évaluations ;
3. Référencement pédagogique.

Les images au format « .ndpi » sont ajoutées sur le serveur de Cytomine grâce à un accès complet pour les enseignants. Au vu de la taille des fichiers, l'export nécessite un certain temps.

F.Cytomine

Pour partager ces images de qualité à l'échelle nationale avec étudiants et enseignants, nous avons choisi une plateforme en ligne dédiée aux coupes histologiques.

Cytomine, plateforme collaborative offrant un microscope et un logiciel d'analyse d'images dans un navigateur WEB, nous permettra de réaliser ce projet. [23]

L'utilisation de ce logiciel en ligne est permise au niveau national par le travail de l'UNESS² offrant aux enseignants et étudiants de différentes disciplines médicales une collection de référence histologiques anatomo-pathologiques.

L'objectif est d'incrémenter une collection de coupes histologiques dentaire de bonnes qualités et reproductibles pour compléter la base de données qui est essentiellement composé d'images médicales d'autres secteurs.

La banque de données dentaire viendra compléter celle initiée par le Pr. Brigitte ALLIOT-LICHT de l'université de Nantes.

Dans le cadre de cet ajout, une guideline est rédigée à destination des étudiants et des enseignants en biologie orale de France.

L'enseignement à travers des travaux pratiques (TP) peuvent alors être initié via la plateforme. Cela est le cas à la faculté de chirurgie dentaire de Lille, ces travaux sont animés par les Docteurs Maxime BEDEZ, Xavier COUTEL, Hélène ROUGE et Maxime DE CRAEKER.

² L'UNESS propose un environnement numérique et une expertise pour accompagner la transformation pédagogique des professions de Santé et du Sport dans le cadre de la formation initiale et tout au long de la vie.

L'UNESS est un groupement d'intérêt public (GIP) réunissant 41 universités françaises et France Universités, sous tutelle du ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche.

Une première proposition de TP se compose comme suit :

1. **Activité synchrone³** : tout le monde accède à l'image, l'enseignant active le suivi (diffusion de la position), l'enseignant réalise une "visite guidée" de l'image, il peut faire des annotations en direct ;
2. **Activité synchrone** : les étudiants doivent chercher, par groupe, des structures spécifiques. Ensuite en restitution, ils doivent chacun leur tour partager leur position, puis décrire ce qu'ils voient. Si nécessaire, ils peuvent utiliser une annotation créée par l'enseignant.
Les étudiants peuvent écrire une description des annotations en direct.
Les étudiants peuvent modifier ou déplacer une annotation en direct.
3. **Activité (a)synchrone⁴** : L'étudiant se positionne sur la coupe, il réalise une annotation, lui rédige une description, puis une impression d'écran ou il utilise la fonction « view crop » de l'outil Cytomine.

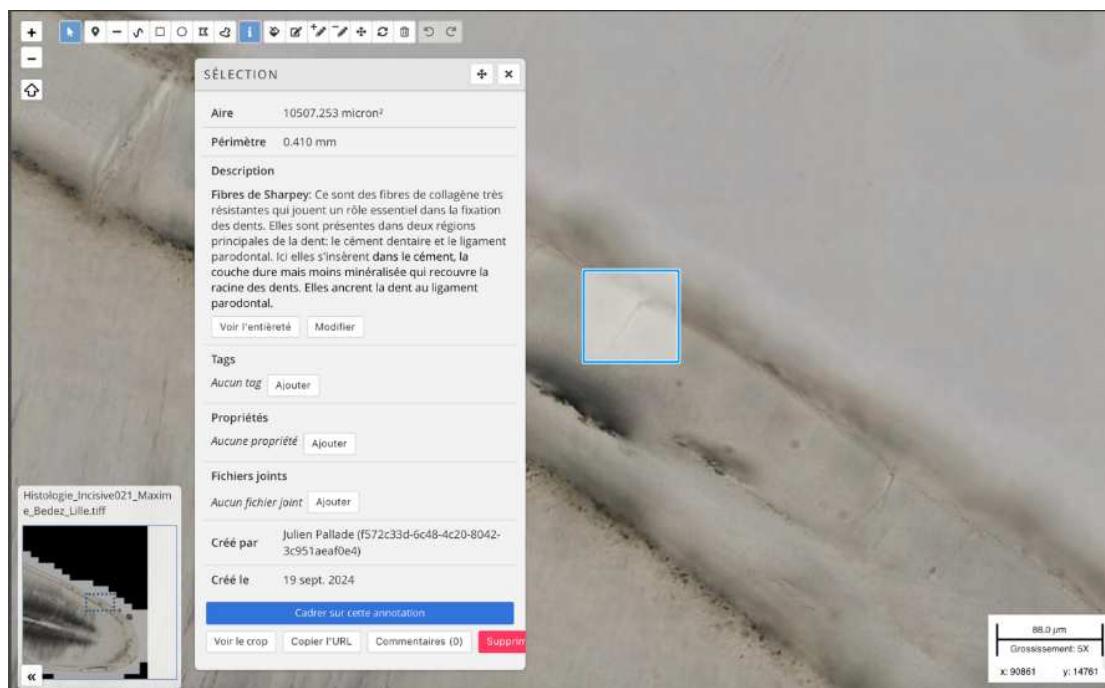


Figure 16 : Impression écran du résultat de l'activité asynchrone d'un étudiant à la faculté de chirurgie dentaire de Lille

À l'issue de ces TP, les étudiants sont capables de repérer sur une coupe histologique les différents tissus qui composent la dent, leur position et leur microstructure.

³ Activité synchrone = activité réalisée en temps réel en groupe dans l'enceinte de la faculté

⁴ Activité (a)synchrone = activité réalisée dans un second temps en distanciel lorsque l'étudiant le souhaite. Cela peut être assimilé à un devoir maison.

Outre l'utilisation lors des travaux pratiques, l'étudiant pourra observer la lame sur le microscope virtuel de manière autonome lorsqu'il le souhaite pour compléter la compréhension de son cours, objectiver des structures ou illustrer un exposé par exemple. Les enseignants pourront enrichir leurs cours grâce à cet outil, qui restera ouvert aux contributions futures d'étudiants, de chercheurs ou d'enseignants.

Résultats

A. Constitution de l'échantillon

Un total de 56 dents permanentes humaines a été collecté et inclus dans l'étude, conformément aux critères d'inclusion définis. Les dents présentaient une bonne intégrité structurelle (absence de carie, restauration, fracture ou dévitalisation). La répartition des dents est présentée dans le Tableau 2, qui associe à chaque lame son numéro de référence et la typologie dentaire correspondante⁵.

Tableau 2 : Tableau regroupant l'ensemble des numéros de lame ainsi que leur typologie dentaire

N° DENT	TYPE DE DENT	
1	Première prémolaire maxillaire	29 Incisive centrale maxillaire
2	/	30 /
3	Canine mandibulaire	31 Incisive latérale maxillaire
4	/	32 Canine mandibulaire
5	/	33 Canine mandibulaire
6	Troisième molaire	34 Deuxième molaire mandibulaire
7	/	35 Deuxième prémolaire mandibulaire
8	/	36 Première prémolaire maxillaire
9	/	37 Incisive latérale maxillaire
10	/	38 Première molaire maxillaire
11	Incisive centrale maxillaire	39 Deuxième prémolaire mandibulaire
12	/	40 Deuxième prémolaire maxillaire
13	Canine mandibulaire	41 /
14	Canine maxillaire	42 Troisième molaire
15	Première molaire maxillaire	43 Troisième molaire
16	Canine maxillaire	44 Troisième molaire
17	Incisive centrale maxillaire	45 Troisième molaire
18	Incisive centrale maxillaire	46 Deuxième prémolaire maxillaire
19	Incisive centrale mandibulaire	47 Troisième molaire
20	Incisive centrale maxillaire	48 Première prémolaire mandibulaire
21	Incisive centrale maxillaire	49 Première prémolaire maxillaire
22	Deuxième prémolaire mandibulaire	50 Deuxième prémolaire mandibulaire
23	Première prémolaire mandibulaire	51 Première prémolaire maxillaire
24	Première prémolaire mandibulaire	52 Incisive latérale maxillaire
25	Première prémolaire mandibulaire	53 Troisième molaire
26	Première prémolaire mandibulaire	54 Troisième molaire
27	Troisième molaire	55 Incisive centrale maxillaire
28	Incisive centrale maxillaire	56 Deuxième prémolaire maxillaire

⁵ Les lames présentant le symbole « / » ont dû être écartées car non exploitables.

B. Réalisation des coupes histologiques

Le protocole de préparation a été appliqué de manière standardisée à l'ensemble des 56 dents. Les étapes ont été réalisées sans incident majeur sur la période de février 2024 au mois d'août 2025, soit 19 mois.

L'épaisseur finale obtenue pour les lames n'était pas comprise entre 60 et 100 µm, comme stipulé dans le protocole, ce qui a entraîné des difficultés lors de la numérisation. Effectivement, une étape supplémentaire d'inclusion dans de la résine a été réalisée lors de l'étape de préparation des lames en sus de celle réalisée par nos soins. Cela a modifié légèrement l'épaisseur finale des coupes et a entraîné l'inclusion de micro-débris rendant difficile l'exploitation des images. De plus, il semble que l'étape de polissage des lames n'a pas été réalisée de manière strictement identique que lors de nos essais, cela a donc entraîné des problèmes de planéité.

Enfin, l'arrêt de la première phase de mise en action du protocole durant quelques mois nous a forcé à devoir recommencer une nouvelle phase de récolte (Figure 22). De ce fait, le nombre d'échantillons final était restreint et moins divers.

La reproductibilité du protocole aurait pu permettre d'obtenir des résultats satisfaisants, comme lors de nos essais.

C. Numérisation des lames

La numérisation des lames a nécessité plusieurs tentatives avant d'obtenir des images d'une qualité plutôt satisfaisante. Pour cause, l'épaisseur des lames et leur manque de régularité au niveau de la planéité de l'échantillon.

Outre ces problématiques, les débris présents en bruit de fond au niveau de l'image numérisée ont compliqué l'étape de numérisation. L'outil informatique permettant de réaliser la mise au point automatique avait comme référentiel ces débris, cela a eu comme conséquence un flou de l'image à certains endroits.

Des exemples d'images obtenues sont présentés dans les Figure 17 à Figure 20, illustrant la qualité des coupes et leur potentiel pédagogique.

D. Intégration pédagogique

En regard des problématiques lié au maintien de la plateforme Cytomine, les images réalisées n'ont pas pu être mises en ligne. En effet, le maintien du microscope virtuel semble être relatif par les équipes de l'UNESS : la mise en ligne de nouvelle numérisation n'est pas autorisée. Les images ainsi réalisées ne sont pas exploitablees en l'état immédiat dans le format souhaité.

Une solution de remplacement à mettre en œuvre consiste à trouver une alternative gratuite et ouverte à Cytomine pour reproduire la même scénarisation pédagogique.



Figure 17 : Image d'une prémolaire numérisée à l'Axioscan

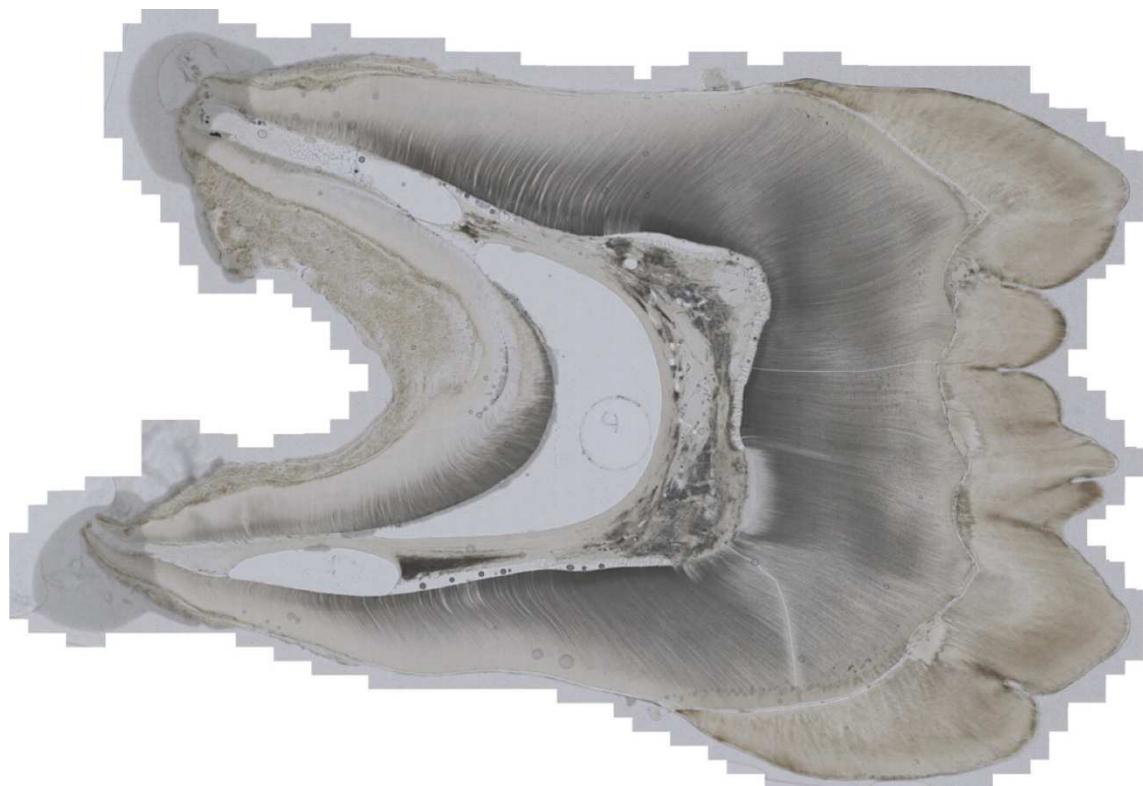


Figure 18 : Image d'une molaire numérisée à l'Axioscan

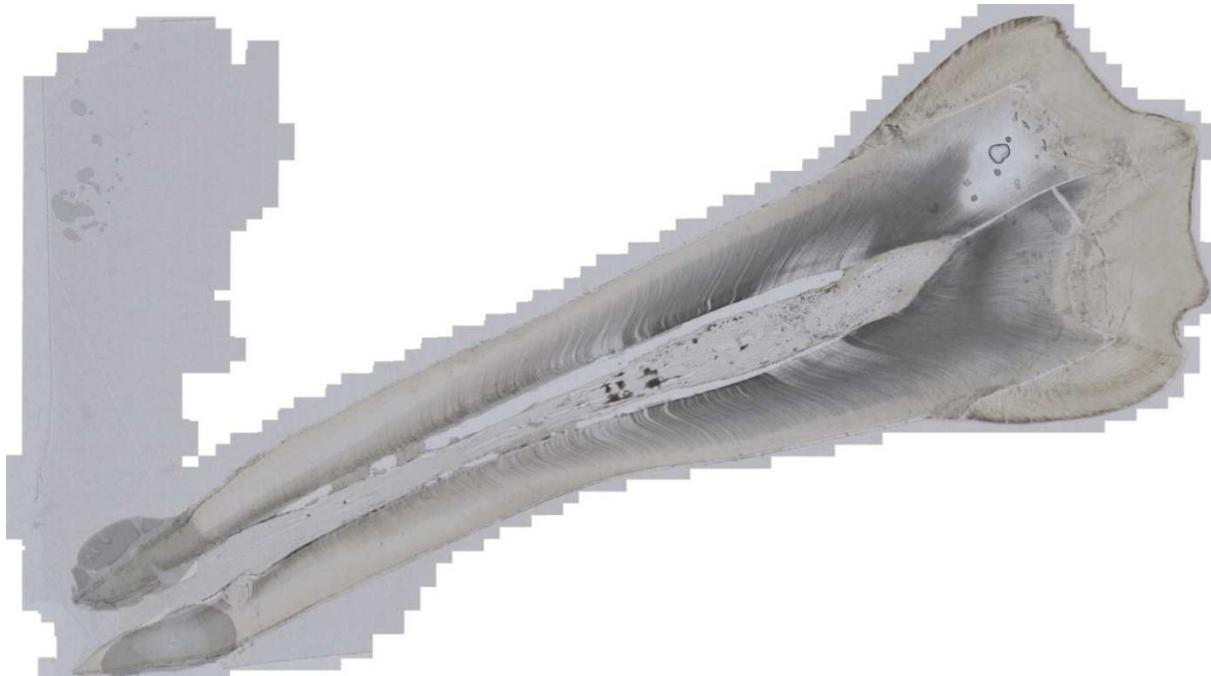


Figure 19 : Image d'une prémolaire numérisée à l'Axioscan



Figure 20 : Image d'une molaire numérisée à l'Axioscan

Discussion

L'objectif principal de ce travail était de mettre en place un protocole permettant la réalisation de coupes histologiques dentaires numérisées, exploitables à des fins pédagogiques. Les résultats obtenus sont globalement satisfaisants, mais plusieurs éléments méritent d'être discutés.

A. Qualité technique des lames

Toutes les lames présentaient la présence de bulles dans la résine, malgré le soin apporté lors du collage et de l'élimination de l'air. Bien que celles-ci n'aient pas affecté la qualité d'observation dans la majorité des cas, elles pourraient nuire à l'analyse si elles se situent sur une structure d'intérêt. Une amélioration possible consisterait à utiliser un système de mise sous vide plus performant, associé à des contenants mieux adaptés.

L'épaisseur finale obtenue n'est pas régulière et différente de celle souhaitée ce qui a entraîné des problématiques lors des étapes de numérisation. Cela est la conséquence des limites mécaniques du polissage manuel et du caractère délégué de cette étape.

L'inclusion supplémentaire lors de l'étape de préparation des lames a entraîné la visibilité d'un bruit de fond au moment de la numérisation. Cela a eu des conséquences sur la numérisation mais également sur l'observation des images.

Un accord précis avec le collaborateur en charge de la préparation reste donc essentiel afin de limiter ces différences.

B. Comparaison avec la littérature

Nos observations ont permis de comparer différentes épaisseurs de coupes. Ainsi, un échantillon à 100 µm, considéré suffisant par Silva *et al.* [21], a été confronté à un échantillon préparé à 60 µm surmonté d'une lamelle. Les résultats ont montré une meilleure lisibilité et une meilleure qualité d'image pour les coupes à 60 µm. Certains auteurs vont même plus loin en réalisant des coupes fines de l'ordre de 30 µm, également recouvertes d'une lamelle de verre [21].

Ces données suggèrent qu'une réduction contrôlée de l'épaisseur pourrait optimiser davantage la qualité des observations.

C. Numérisation des échantillons

La numérisation à l'objectif x20 s'est révélée être un compromis pertinent entre résolution, netteté et poids des fichiers. Toutefois, certaines zones périphériques des lames présentaient un flou léger (Figure 21), probablement lié à un défaut de planéité.



Figure 21 : Image centrée sur une zone floue

Par ailleurs, la difficulté pour l'opérateur réalisant la numérisation a été d'obtenir une zone de numérisation sur un axe de l'échantillon assez importante pour pouvoir observer les éléments histologiques et permettant d'exclure au maximum les débris contenus dans le second milieu d'inclusion (Figure 10). Une deuxième numérisation a donc été nécessaire pour obtenir des images exploitables. Ces ajustements montrent l'importance d'un protocole rigoureux de positionnement et de réglage du scanner.

D. Perspectives pédagogiques

L'intégration des images sur la plateforme Cytomine a montré un potentiel pédagogique indéniable [24]. Les fonctions d'annotation, de zoom et de navigation offrent une expérience fluide et adaptée à l'enseignement. Toutefois, une évaluation à plus grande échelle est nécessaire pour tester la robustesse d'un tel système, notamment en conditions réelles d'utilisation avec un grand nombre d'étudiants connectés simultanément.

De plus, la plateforme a été rachetée [25] suite à l'abandon et la faillite [26] par le précédent propriétaire, cela montre une certaine fragilité dans la maintenance de l'outil et la pérennité du projet. L'impossibilité d'inclure de nouvelles images montre une nouvelle fois la faiblesse de cet outil.

Dans le domaine de la pathologie numérique, des solutions telles que Cytomine permettent non seulement de visualiser les lames histologiques entières mais aussi de les associer à des données moléculaires [27], cela pourrait être utilisé lors de l'analyse du tissu pulpaire par exemple.

En m'inspirant de l'approche proposée par Fries *et al.* (2024), il serait pertinent d'utiliser les fonctions qui permettent un suivi discret des interactions étudiantes sur Cytomine, tel que le choix des lames consultées, le temps passé dessus ou encore l'utilisation des annotations. Une telle démarche offrirait un double avantage : repérer les lames les plus efficaces d'un point de vue pédagogique et, parallèlement, orienter les étudiants vers des contenus moins explorés mais tout aussi essentiels pour leur apprentissage. [28]

Enfin, au-delà des dents saines, il serait pertinent d'élargir la banque d'images à des dents présentant des altérations structurelles (caries, restaurations par amalgame ou composite, dents dévitalisées, éclaircies, traumatisées, couronnées). Ces cas permettraient d'illustrer de manière concrète les conséquences histologiques des soins et de mieux relier la théorie à la pratique clinique. À titre d'exemple, les colorations grisâtres induites par les amalgames sont un marqueur histologique intéressant à exploiter dans une perspective pédagogique.

Tableau 3 : Tableau de synthèse : succès et échec du protocole proposé

Succès	Échecs
Mise en place d'un cadre juridique clair concernant le recueil des échantillons dentaires	Maitrise incomplète des étapes lorsqu'elles ont été déléguées
Mise en place théorique d'un protocole clair et reproductible pour la réalisation des lames dentaires	Images numérisées pas totalement exploitables
Tests de l'outil pédagogique lors de travaux pratiques	Impossibilité d'alimenter la plateforme Cytomine

E. Chronologie du travail de recherche

Cette thèse a nécessité un travail de recherche qui s'est étalé de novembre 2023 à septembre 2025. Ce long délai s'explique d'une part par la panne du matériel permettant de réaliser l'inclusion des dents dans des conditions de sécurité. Mais également puisque nous faisions appel à des intermédiaires pour les étapes de laboratoire ainsi que de numérisation.

Pour mieux comprendre comment se sont articulés les différentes étapes, un diagramme chronologique a été réalisé.

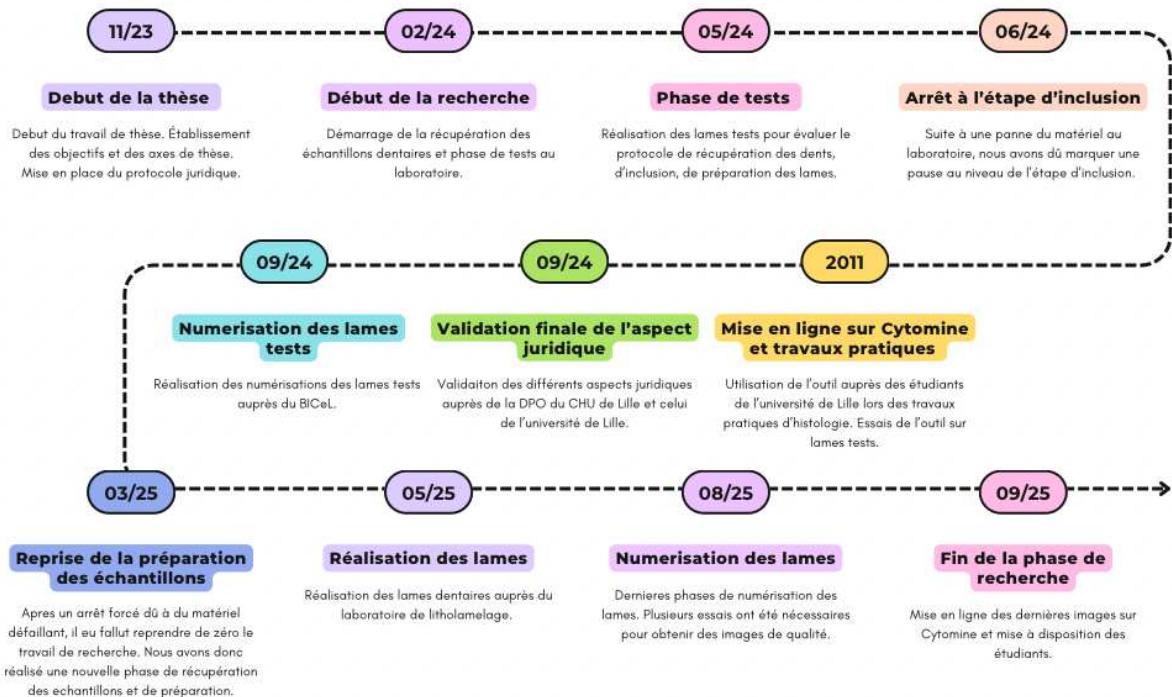


Figure 22 : Diagramme présentant la chronologie du travail de thèse

Conclusion

En résumé, les travaux menés ont permis d'élaborer un protocole complet, allant de la collecte des dents jusqu'à la numérisation des coupes histologiques à haute résolution. Chaque phase a été conçue, expérimentée et modifiée pour satisfaire aux exigences techniques, juridiques et éducatives rencontrées. Ainsi, ce travail offre une base méthodologique robuste et duplicable, appropriée pour l'enseignement de l'histologie dentaire. Toutefois, en dépit de la qualité du protocole et des efforts consacrés à sa réalisation, les résultats finaux n'ont pas complètement satisfait les objectifs escomptés. Bien que les coupes réalisées soient utilisables et favorisent l'étude des structures dentaires majeures, plusieurs contraintes ont été notées : l'apparition constante de bulles, une variation d'épaisseur et quelques obstacles lors du processus de numérisation. Ces facteurs soulignent l'importance d'une normalisation plus précise et de ressources techniques appropriées pour assurer une production de lames totalement homogène et de qualité optimale. Concernant la partie numérique, l'intégration des images sur la plateforme Cytomine avait initialement pour but de rendre les observations accessibles à distance, de favoriser l'interactivité et de moderniser l'enseignement de l'histologie. Cependant, la récente mise en faillite et le rachat de Cytomine ont entraîné la perte de plusieurs fonctionnalités, dont l'impossibilité d'ajouter de nouvelles images. Ce contexte limite actuellement l'exploitation pédagogique envisagée à l'origine. Malgré cela, l'expérience acquise autour de la numérisation et de la gestion d'images histologiques reste précieuse et pourra être réinvestie dans d'autres outils numériques ou plateformes open source.

Ainsi, même si les résultats n'ont pas atteint pleinement les attentes initiales, ce travail apporte une contribution concrète à la réflexion sur l'enseignement de l'histologie dentaire. Il met en lumière les défis techniques réels liés à la production de lames histologiques numériques et propose une démarche reproductible pouvant être améliorée et adaptée à de futurs projets. Ce protocole constitue une étape importante vers une pédagogie plus moderne, fondée sur l'image, la précision et la transmission accessible de la science.

Ce protocole, bien qu'inspiré par certaines méthodes de la littérature, a été spécialement conçu et ajusté pour ce travail. Il a été modifié en tenant compte des limitations du matériel à disposition et des objectifs d'enseignement

spécifiques visés. Il offre donc un socle robuste qui peut être utilisé pour d'autres départements ou projets avec des finalités similaires.

En définitive, cette thèse ne se limite pas à un simple protocole technique. Elle traduit une volonté de moderniser et de repenser l'enseignement d'une discipline essentielle, en tirant parti des outils numériques tout en tenant compte de leurs limites. Si les résultats n'ont pas pleinement abouti, ils ouvrent des perspectives solides pour les prochaines évolutions dans la création et l'exploitation de ressources histologiques numériques.

Bibliographie

1. Gurina TS, Simms L. Histology, staining. In : StatPearls. Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing ; 2025 [cité 23 sept 2025].
2. Mazzarini M, Falchi M, Bani D, Migliaccio AR. Evolution and new frontiers of histology in bio-medical research. *Microsc Res Tech.* 2021 ;84(2) :217-37. DOI : 10.1002/jemt.23579
3. Soares M. Analyse histologique de l'organe dentaire : quels apports pour l'identification. [Thèse d'exercice]. [Université de Reims Champagne-Ardenne] : Reims ; 2024.
4. Mathew RA, Doddawad VG, Shivananda S, Dhakshaini MR, Suresh J, Alex A. Analysis of heat induced changes in dental tissue for forensic application : a scanning electron microscope study. *Morphol Bull Assoc Anat.* 2025 ;109(365) :100948. DOI : 10.1016/j.morpho.2024.100948
5. Chidambaram R. A select list of international cases involving forensic odontology (49-2013 ad). *Henry Noble Hist Dent Res Group - Dent Hist Mag Glasg Univ.* 2014 ;8 :6.
6. Faculté de Médecine de Lille. Réglementation des études de l'université de lille 2025-26 pass/las [Internet]. 2025 [cité 12 nov 2025].
7. Faculté de chirurgie dentaire de Lille. Réglementation des études [Internet]. 2025 [cité 12 nov 2025].
8. Novacescu D, Dumitru CS, Zara F, Raica M, Suciu CS, Barb ACet al. The morphogenesis, pathogenesis, and molecular regulation of human tooth development—a histological review. *Int J Mol Sci.* 2025 ;26(13). DOI : 10.3390/ijms26136209
9. Hasan S, Almashhadi Z, Hussein A, Abbas H. Assessment of oral histology knowledge and its application in clinical orthodontics, operative dentistry, oral medicine, and oral surgery. *Dent 3000.* 2024 ;12. DOI : 10.5195/d3000.2024.749
10. Meghil MM, Mandil O, Nevins M, Saleh MHA, Wang HL. Histologic evidence of oral and periodontal regeneration using recombinant human platelet-derived growth factor. *Medicina (Mex).* 2023 ;59(4). DOI : 10.3390/medicina59040676
11. Gatt G, Attard NJ. Multimodal teaching methods for students in dentistry : a replacement for traditional teaching or a valuable addition? a three-year prospective cohort study. *BMC Med Educ.* 2023 ;23(1) :401. DOI : 10.1186/s12909-023-04377-z
12. Tauber Z, Lacey H, Lichnovska R, Erdosova B, Zizka R, Sedy Jet al. Students' preparedness, learning habits and the greatest difficulties in studying histology in the digital era : a comparison between students of general and dental schools. *Eur J Dent*

13. Calmelet L. Échanges avec le délégué à la protection des données du CHU de lille. 2024.
14. Article l1211-2 - code de la santé publique [Internet]. août 4, 2021.
15. Article r1211-49 - code de la santé publique - légifrance [Internet].
16. Eppendorf tubes® 3810x - microtube [Internet]. [cité 15 avr 2025].
17. Gambiez A. Échanges avec le docteur Alain Gambiez.
18. Kuah HG, Lui JN, Tseng PSK, Chen NN. The effect of edta with and without ultrasonics on removal of the smear layer. *J Endod.* 2009 ;35(3) :393-6. DOI : 10.1016/j.joen.2008.12.007
19. Valentine G, Piper K. Preparation of mineralized tissue for light microscopy. *Methods Mol Biol Clifton NJ.* 2012 ;915 :37-50. DOI : 10.1007/978-1-61779-977-8_3
20. Delplace S. Protocole pour la préparation du méthylméthacrylate accéléré. 2015.
21. Silva GAB, Moreira A, Alves JB. Histological processing of teeth and periodontal tissues for light microscopy analysis. *Methods Mol Biol Clifton NJ.* 2011 ;689 :19-36. DOI : 10.1007/978-1-60761-950-5_2
22. Logiciel de microscopie zeiss zen [Internet]. [cité 10 avr 2025].
23. Beka J, Vincke G. Cytomine. [cité 12 sept 2024]. Cytomine.
24. Marée R, Rollus L, Stévens B, Hoyoux R, Louppe G, Vandaele Ret al. Collaborative analysis of multi-gigapixel imaging data using cytomine. *Bioinforma Oxf Engl.* 2016 ;32(9) :1395-401. DOI : 10.1093/bioinformatics/btw013
25. Marée R. Upcoming cytomine ce 2025 [Internet]. Cytomine Research @ ULiège. 2025 [cité 27 sept 2025].
26. Gosset O. La start-up liégeoise cytomine a mis fin à ses activités [Internet]. L'Echo. 2024 [cité 27 sept 2025].
27. Rubens U, Hoyoux R, Vanosmael L, Ouras M, Tasset M, Hamilton Cet al. Cytomine : toward an open and collaborative software platform for digital pathology bridged to molecular investigations. *Proteomics Clin Appl.* 2019 ;13(1) :e1800057. DOI : 10.1002/prca.201800057
28. Fries A, Pirotte M, Vanhee L, Bonnet P, Quatresooz P, Debruyne Cet al. Validating instructional design and predicting student performance in histology education : using machine learning via virtual microscopy. *Anat Sci Educ.* 2024 ;17(5) :984-97. DOI : 10.1002/ase.2346

Table des figures

Figure 1 : Image d'un microtube de la marque Eppendorf [16] ...	22
Figure 2 : Image d'une prémolaire vue au microscope optique à un grossissement x10 présentant des défauts de type bulle d'air (image personnelle)	24
Figure 3 : Photographie d'échantillons dentaire durant le protocole de déshydratation.....	24
Figure 4 : Photographie d'une proposition de contenant d'inclusion	25
Figure 5 : Photographie d'une cloche sous vide reliée à un compresseur	26
Figure 6 : Photographie d'échantillons en inclusion dans une cloche sous vide	26
Figure 7 : Photographie de la cloche sous vide au réfrigérateur à 4 °C	27
Figure 8 : photographie d'échantillons dentaires polymérisés réalisés dans le laboratoire de la faculté de Lille	28
Figure 9 : photographie d'échantillons dentaires après découpe grâce à une disqueuse permettant de mettre en évidence une zone d'intérêt	30
Figure 10 : Photographie d'une zone de bruit de fond.....	32
Figure 11 : Image des supports réalisés par le laboratoire BiCeL	33
Figure 12 : Image des supports réalisés par le MABlab vue de haut	34
Figure 13 : Image des supports vues de côté pour apprécier la différence d'épaisseur	34

Figure 14 : Images de prévisualisation des lames dentaires obtenues par photographie à travers l'oculaire d'un microscope optique	35
Figure 15 : Images comparatives d'une observation au microscope optique de tissus dentaires. A : Observation au grossissement x10. B : Observation au grossissement x20.....	36
Figure 16 : Impression écran du résultat de l'activité asynchrone d'un étudiant à la faculté de chirurgie dentaire de Lille.....	38
Figure 17 : Image d'une prémolaire numérisée à l'Axioscan	43
Figure 18 : Image d'une molaire numérisée à l'Axioscan	43
Figure 19 : Image d'une prémolaire numérisée à l'Axioscan	44
Figure 20 : Image d'une molaire numérisée à l'Axioscan	44
Figure 21 : Image centrée sur une zone floue	46
Figure 22 : Diagramme présentant la chronologie du travail de thèse	48

Table des tableaux

Tableau 1 : Articles du code de santé publique qui légifèrent le prélèvement, la collecte et l'utilisation d'éléments du corps humain	19
Tableau 2 : Tableau regroupant l'ensemble des numéros de lame ainsi que leur typologie dentaire	40
Tableau 3 : Tableau de synthèse : forces et limites du protocole proposé	48

Annexes

A. Annexe 1

NOTE D'INFORMATION CONCERNANT LE RECUEIL DE DONNEES A DES FINS PEDAGOGIQUES

« Mise en place d'un protocole pour la réalisation de coupe histologique de l'organe dentaire en vue d'une numérisation à haute résolution à destination pédagogique »

Dr Maxime BEDEZ (directeur de thèse) - Yacine CHARKAOUI (externe en 6^e année de chirurgie dentaire)

Cette note d'information a pour objectif de vous expliquer le but du recueil afin que vous puissiez décider d'y participer ou non. Votre participation à ce projet doit être entièrement volontaire. Prenez le temps de lire cette note d'information et n'hésitez pas à poser des questions si besoin.

I. Le but du projet

Ce projet porte sur la collecte de coupes de tissus dentaires numérisées ainsi que de certaines données associées. La base de données ainsi créée servira pour les enseignements des étudiants en chirurgie dentaire de France à travers une plateforme nationale Cytomine.

II. Quelles données sont recueillies, pourquoi et comment ?

Vous êtes sollicité en raison de votre prise en charge au CHU de Lille dans le cadre de soins nécessitant une ou des avulsions dentaires. Le recueil de données se fera à partir des informations présentes dans votre dossier médical informatique ou papier

Les données nécessaires pour la conduite de ce projet comprennent notamment : âge, sexe, numéro de la dent extraite, raison de l'extraction et coupe dentaire numérisée.

III. Confidentialité des données

Les données médicales recueillies dans le cadre de ce projet seront traitées par l'Université de Lille, représenté par son représentant légal en exercice, en tant que responsable de traitement, sur le fondement de votre consentement. Les données vous concernant seront pseudonymisées, c'est-à-dire qu'aucune information ne pourra permettre de vous identifier directement. Elles seront ensuite transmises aux établissements d'enseignement.

La base de données ainsi créée sera conservée pendant 2 ans. Puis, la base de données sera archivée pendant la durée légale autorisée.

Conformément à la loi « informatique et libertés » du 6 janvier 1978 et au règlement (UE) 2016/679 du 27 avril 2016 relatif à la protection des personnes physiques à l'égard du traitement des données à caractère personnel et à la libre circulation de ces données, vous disposez à leur égard d'un droit d'accès, de rectification, d'effacement, de limitation du traitement et du droit de vous opposer au traitement.

Si vous souhaitez exercer vos droits et obtenir communication des informations vous concernant, veuillez-vous adresser au délégué à la protection des données du Groupement

Hospitalier Territorial Lille Métropole Flandres Intérieur à l'adresse suivante : dpo@univ-lille.fr.

Si vous considérez que vos droits n'ont pas été respectés, vous avez également la possibilité de saisir la Commission Nationale de l'Informatique des Libertés (CNIL) directement via son site internet : www.cnil.fr.

Vous pouvez accéder directement ou par l'intermédiaire d'un médecin de votre choix à l'ensemble de vos données médicales en application des dispositions de l'article L1111-7 du Code de la Santé Publique. Ces droits s'exercent auprès du médecin qui vous suit et qui connaît votre identité.

IV. Acceptation et interruption de votre participation

Vous êtes libre d'accepter ou de refuser de participer à ce projet. Dans le cas où vous répondriez par la positive, vous disposez de la possibilité d'interrompre votre participation à tout moment sans aucun préjudice et sans engager votre responsabilité. Cela n'affectera évidemment pas votre prise en charge.

Fait à :..... Le :.....

Signature du responsable du projet :

B. Annexe 2

Formulaire de recueil de consentement pour les patients

« Mise en place d'un protocole pour la réalisation de coupe histologique de l'organe dentaire en vue d'une numérisation à haute résolution à destination pédagogique »

Dr Maxime BEDEZ (directeur de thèse) - Yacine CHARAKOUI (externe en 6^e année de chirurgie dentaire)

Je soussigné(e), Mr, Mme, (rayer les mentions inutiles).....accepte librement et volontairement de participer au projet impliquant l'utilisation de mes données à des fins pédagogiques mis en œuvre par l'Université de Lille.

Étant entendu que :

- Le médecin qui m'a informé et a répondu à toutes mes questions, m'a précisé que ma participation est libre et que mon droit de retrait de peut s'exercer à tout moment, (dans ce cas, je m'engage néanmoins, à en informer mon médecin),
- Mon consentement ne décharge en rien le médecin et le responsable de traitement de l'ensemble de leurs responsabilités et je conserve tous mes droits garantis par la loi.
- J'accepte que les données enregistrées à l'occasion de ce projet puissent faire l'objet d'un traitement informatisé par le promoteur ou pour son compte. J'ai bien noté que les droits concernant mes données personnelles prévus par la loi du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés (art. 39) et par le règlement européen sur la protection des données personnelles (2016/679) (Articles 12 et suivants) s'exercent à tout moment auprès du médecin qui me suit dans le cadre du projet et qui connaît mon identité ou du Responsable de la protection des données du promoteur (DPO). Je pourrai exercer mon droit de rectification et d'opposition auprès de ce même médecin ou du DPO, qui contacteront le responsable de traitement.

Fait à..... le.....

Fait à..... le.....

Signature du patient :

Signature du responsable du projet :

C. Annexe 3

A l'attention des encadrants de chirurgie orale du Service d'Odontologie de Lille,

Docteures, Docteurs,
Mesdames, Messieurs les internes,
Mesdames les assistantes,

Dans le cadre de la réalisation de la thèse d'exercice de M. Yacine Charkaoui « Mise en place d'un protocole pour la réalisation de coupe histologique à des fins pédagogiques en vue d'une numérisation à haute résolution » encadrée par le Dr Maxime Bedez, nous allons procéder au **recueil d'échantillons dentaires** dans l'**UF de chirurgie** du service d'odontologie de Lille du **27 mai au 7 juin 2024**.

Ce recueil ne nécessite ni le recueil du consentement du patient ni la délivrance de l'information. Pour affirmer cela, nous nous appuyons sur les textes de loi en vigueur¹ et sur nos échanges avec le délégué à la protection de données (DPO) du CHU de Lille, M^{me} Louise Calmelet.

Notre recueil vise à sélectionner au moins 40 dents, incluant :

- Les **dents structurellement saines**, extraites pour raison orthodontique ou parodontale : pour ce premier groupe, nous souhaitons représenter tous les groupes dentaires [**32 dents** : 2 dents de chaque type] ;
- Les **dents atteintes par une carie** [**8 dents** : 2 incisives, 2 canines, 2 prémolaires, 2 molaires].

Pour le premier groupe, nous excluons les dents présentant une restauration prothétique, un traitement endodontique, une restauration importante ou un délabrement important. Pour le second groupe, nous excluons les dents présentant une restauration prothétique.

Pour chaque dent récoltée, nous mettons à disposition une **étiquette** sur laquelle noter le **numéro de dent**. Merci de ne pas coller l'étiquette du patient qui contient des informations sensibles.

Nous mettons à votre disposition des **microtubes** contenant le milieu conservation (alcool à 32°), merci d'y placer la dent après un **simple rinçage-nettoyage**.

Pour tout ce processus, M. Yacine Charkaoui s'efforcera d'être disponible pour superviser le recueil et répondre à toutes vos questions.

Nous restons à votre disposition si besoin.

Article L1211-2 du CSP

« Le prélèvement d'éléments du corps humain et la collecte de ses produits ne peuvent être pratiqués **sans le consentement préalable du donneur**. Ce **consentement est révocable à tout moment**. » +

“L'utilisation d'éléments et de produits du **corps humain** à une fin médicale ou **scientifique autre que celle pour laquelle ils ont été prélevés ou collectés est possible**, sauf opposition exprimée par la personne sur laquelle a été opéré ce prélèvement ou cette collecte, dûment informée au préalable de cette autre fin.”

Article R1211-49 du CSP

« Ne sont pas soumis aux dispositions du présent titre les produits du corps humain désignés ci-après :

1° Les cheveux ; 2° Les ongles ; 3° Les poils ; 4° **Les dents.** »

Dr Maxime Bedez et Yacine CHARKAOUI

Thèse d'exercice : Chir. Dent. : Lille : Année 2025 – 2026

Titre de la thèse en français / **Yacine CHARKAOUI.** - p. 63 : ill. 22 ; réf. 28.

Domaines : Histologie, Enseignement, Déontologie

Mots clés Libres : Lames dentaires, protocole, histologie dentaire, anatomie dentaire.

L'histologie dentaire joue un rôle essentiel dans la formation des étudiants en chirurgie dentaire, leur offrant la possibilité de comprendre la microstructure tissus bucco-dentaires et de relier ces connaissances à la pratique clinique. Ce travail de thèse a eu pour objectif de développer un protocole standardisé permettant la réalisation de coupes histologiques dentaires fines à partir de dents humaines extraites, dans le respect du cadre légal en vigueur. Le protocole mis en place englobe l'ensemble des étapes permettant d'obtenir ces coupes. Cinquante-six dents ont été traitées selon cette méthode. Les lames obtenues ont été numérisées à l'aide d'un microscope automatisé (Axioscan Zeiss Colibri 7) afin d'obtenir des images à haute résolution. Les résultats ont mis en évidence un protocole globalement reproductible et fonctionnel, bien que certaines limites techniques persistent, notamment la présence de bulles, une variabilité d'épaisseur et des difficultés lors de la numérisation. L'intégration des images sur la plateforme Cytomine, initialement envisagée pour permettre une visualisation interactive et un usage pédagogique en ligne, n'a pas pu être pleinement réalisée en raison de la mise en faillite récente et du rachat de la plateforme.

En dépit de ces contraintes, ce travail démontre la faisabilité d'une approche complète et méthodique de l'histologie dentaire numérique. Il constitue une base solide pour le développement futur d'outils pédagogiques interactifs et de protocoles améliorés, visant à moderniser et enrichir l'enseignement de l'histologie dans la formation dentaire.

JURY :

Président : Monsieur le Professeur Thomas COLARD

Assesseurs : Madame le Docteur Mathilde SAVIGNAT

Monsieur le Docteur Xavier COUTEL

Monsieur le Docteur Maxime BEDEZ

Membre invité : Nicolas BERTHEAUME