



HAL
open science

**LE DIAGNOSTIC DE NOYADE PAR LA
RECHERCHE ET L'IDENTIFICATION DES
DIATOMÉES Intérêt d'une extraction tissulaire par
digestion enzymatique**

B Ludes, M Coste, P Mangin

► **To cite this version:**

B Ludes, M Coste, P Mangin. LE DIAGNOSTIC DE NOYADE PAR LA RECHERCHE ET L'IDENTIFICATION DES DIATOMÉES Intérêt d'une extraction tissulaire par digestion enzymatique. *Vie et Milieu / Life & Environment*, 1995, pp.231-234. hal-03052013

HAL Id: hal-03052013

<https://hal.sorbonne-universite.fr/hal-03052013v1>

Submitted on 10 Dec 2020

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.

LE DIAGNOSTIC DE NOYADE PAR LA RECHERCHE ET L'IDENTIFICATION DES DIATOMÉES

Intérêt d'une extraction tissulaire par digestion enzymatique

B. LUDES¹, M. COSTE² et P. MANGIN¹

¹Institut de Médecine Légale, 11 rue Humann, 67085 Strasbourg, France

²Cemagref, 50 avenue de Verdun, BP 3, 33611 Gazinet Cedex, France

DIATOMÉES
NOYADE
DIAGNOSTIC DE LA MORT
MÉTHODES
DIGESTION ENZYMATIQUE

RÉSUMÉ – Les auteurs exposent l'intérêt de la recherche et de l'identification des Diatomées dans le diagnostic de noyade qui est l'un des plus difficiles en médecine légale. Cette recherche est controversée depuis sa description car ces algues ont également été retrouvées par certains auteurs chez des sujets témoins. En effet, la pression hydrostatique exercée sur un corps immergé entraîne une résorption passive des Diatomées dans les tissus des organes et surtout dans le tissu pulmonaire qui est le plus exposé car en relation directe avec le milieu de submersion par l'intermédiaire des voies aériennes supérieures. Actuellement, malgré ces réserves et grâce aux différentes techniques utilisées pour l'extraction des Diatomées à partir des tissus pulmonaire, rénal, cérébral et hépatique par digestion acide ou digestion enzymatique, nous accordons une crédibilité certaine à cette recherche dans les cas où la composition microfloristique de l'eau et celle des tissus correspondent. La mise en évidence de Diatomées en nombre suffisant dans les autres organes que le poumon peut être indicatrice de noyade. La recherche de Diatomées est une étape importante pour poser le diagnostic de submersion vitale, particulièrement dans le cas de corps putréfiés découverts immergés. Cette technique impose une connaissance approfondie de cette flore qui compte des milliers d'espèces et nécessite une méthodologie précise où l'éviction des sources de contamination est primordiale.

DIATOMS
DROWNING
DIAGNOSIS OF DEATH
METHODS
ENZYMATIC DIGESTION

ABSTRACT – The reliability and applicability of quantitative and qualitative diatom analysis in the diagnosis of putrified bodies has been evaluated in 30 immersion cases using light microscopy. This study included control organ samples from the bodies of 5 persons who died from causes other than drowning. Organ samples were treated by enzymatic method using proteinase K. Diatoms were present in most organ samples of the immersed corpses; no diatoms could be found in the control samples. Our experience was that the enzymatic method seemed to be convenient in terms of rapidity, safety and environmental protection. Qualitative and quantitative analysis of both water and organ samples of immersion cases supported the diagnosis of death by drowning in 30% of the cases studied. The authors suggest that diatom analysis using enzymatic digestion of organs can be used as a criterion for positive diagnosis of drowning.

De tout temps, les médecins légistes ont cherché des signes ou des tests biologiques qui permettent de poser le diagnostic de submersion vitale. Mais s'il existe, sur un corps frais, des signes cliniques en faveur d'une inhalation d'eau tel que le champignon de mousse au niveau des voies aériennes, en cas de putréfaction, ce diagnostic est impossible.

La recherche des Diatomées et leur identification au niveau des tissus de la victime est proposée par de nombreux auteurs dont Peabody et Burgess (1980) et Auer et Mottonen (1988) comme témoins d'une inhalation d'eau, mais d'autres (Gylseth B. et Mowé (1979) ont contesté la valeur de ce test dans la mesure où de telles algues ont pu être retrouvées dans les organes notamment dans le poumon de sujets non décédés de noyade.

Selon Peabody et Burgess (1980) et Timpermann (1972), la mise en évidence de Diatomées dans les tissus pulmonaire, hépatique, rénal et cérébral et notamment dans la moelle osseuse est en faveur d'une noyade quand cette analyse est réalisée par du personnel expérimenté et selon des critères rigoureux.

Ainsi, la recherche de Diatomées est acceptée comme preuve de noyade dans de nombreux pays dont la Finlande.

Dans ce travail nous présentons une étude réalisée sur 35 corps dont 30 victimes de noyade et 5 corps pris comme témoins négatifs.

Alors que les auteurs précédemment cités réalisent l'extraction des Diatomées à partir des tissus humains par une digestion acide, nous proposons une digestion enzymatique à l'aide de la protéinase K.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

* les victimes :

Les victimes ont toutes été repêchées dans les cours d'eau de la région Strasbourgeoise du 1er janvier 1993 au 20 décembre 1993. Le délai post-mortem des corps varie de 1 à 60 jours.

* prélèvements d'eau :

2 échantillons d'eau de 100 ml chacun ont été prélevés sur le site de découverte du corps. L'un des prélèvements réalisé est en surface, l'autre en profondeur et contient des graviers du lit du cours d'eau. Sur ce dernier prélèvement les Diatomées sont recueillies aussi bien dans le liquide en suspension que par grattage des graviers. Les échantillons sont ensuite centrifugés pendant 15 minutes à 2500 tpm et les Diatomées sont purifiées par une incubation dans une solution d'eau oxygénée (130 vol pour cent) à 80°C pendant 12 heures. Après une centrifugation de 15 minutes à 2500 tpm, cette étape est renouvelée à 2 reprises. Après une centrifugation finale de 3000 tpm pendant 15 minutes, le culot est séché à l'air sur une lame porte objet qui est ensuite fixée à l'aide de Naphrax® pour l'examen au microscope optique à l'aide d'un objectif à immersion.

* digestion enzymatique des tissus :

Lors de l'autopsie médico-légale, des prélèvements de 10 g de tissu pulmonaire, hépatique, rénal et cérébral sont effectués en prenant soin d'éviter toute contamination par l'eau de rinçage de la table d'autopsie, par les instruments utilisés et par la verrerie dans laquelle les tissus sont incubés. La décontamination de la verrerie est réalisée par une incubation pendant 12 heures dans la soude molaire.

Les échantillons sont incubés après dilacération dans 100 ml de tampon (0,01 M Tris - HCl, pH 7,5, SDS 2%) et 500 µl de protéinase K (10 mg/ml), à 50°C pendant 12 heures. Après 8 heures d'incubation, 500 µl de protéinase K sont rajoutés au milieu de la réaction après la dissolution des tissus et une centrifugation finale de culot est examinée après étalement sur une lame porte-objet puis fixation à l'aide de Naphrax® pour l'examen au microscope optique.

RÉSULTATS

Dans tous les cas examinés, aucun contact direct avec l'eau d'immersion et les tissus n'a été observé.

Dans les échantillons d'eau, la détermination des espèces dominantes se fait après comptage de 200 Diatomées. Toutes les eaux prélevées en profondeur contiennent des Diatomées en nombre suffisant pour l'analyse comparative. Dans 5 prélèvements d'eau superficielle sur 30, moins de 5 Diatomées par 100 µl de culot ont été dénombrées.

Dans les tissus humains, la présence de Diatomées est considérée par Auer et Mottonen (1988) comme positive si plus de 20 Diatomées sont retrouvées à l'examen d'une lame porte-objet effectuée à partir du tissu pulmonaire. Pour notre part, nous avons fixé cette limite à 20 Diatomées par 100 µl de culot obtenu à partir de 10 g de tissu pulmonaire. A partir des autres organes nous considérons cette analyse concluante quand 5 Diatomées par 100 µl de culot obtenu à partir de 10 g de tissu, sont dénombrées sur des lames. En deçà de ces chiffres, la présence de Diatomées relève d'une contamination.

Sur les 30 corps retirés de l'eau, la recherche de Diatomées est uniquement positive sur le tissu pulmonaire dans 18 cas, avec plus de 60 Diatomées par 10 g de tissu pulmonaire, dans 9 cas, les résultats sont positifs dans les prélèvements pulmonaires et dans les autres tissus analysés (cerveau, foie, rein) (Tabl. I). Dans 3 cas, aucune Diatomée n'a été retrouvée dans les organes de la victime alors qu'elles sont présentes dans les prélèvements d'eau.

Tabl. I. - Résultats de l'analyse des tissus des victimes.

Cas	Eau	Poumons	Cerveau	Reins	Foie
18	+	+	-	-	-
3	+	+	-	+	-
1	+	+	+	-	-
5	+	+	-	-	+
3	+	-	-	-	-

Le nombre maximum de Diatomées retrouvées dans le tissu pulmonaire est de 80 par 10 g de tissu relevant de 5 à 10 genres différents suivant la richesse de la microflore aquatique. Dans les autres tissus, le nombre maximum est de 15 par 10 g de tissu relevant de 3 genres différents.

Aucune Diatomée n'a été découverte dans les tissus des 5 cas témoins.

Les genres les plus fréquemment retrouvés dans l'analyse des tissus sont *Navicula*, *Frustulia*, *Cyclotella*, *Nitzschia*, *Melosira*, *Fragilaria*, *Gomphonema*, *Synedra*, *Cymbella* et *Tabellaria*.

Dans les eaux étudiées, les genres *Navicula*, *Frustulia*, *Cyclotella*, *Nitzschia*, *Melosira* et *Cyclotella* ont été individualisés.

D'après notre expérience, les Diatomées dont les tailles varient entre 5 µm et 50 µm ont été retrouvées dans le tissu pulmonaire et ont donc réussi à pénétrer au travers de la barrière alvéolo-capillaire.

DISCUSSION

Il est essentiel de tenir compte lors de l'interprétation des résultats de la recherche des Diatomées des possibilités de contamination donc de la présence de Diatomées dans les tissus pulmonaires de personnes non noyées. Pour Polson et coll. (1985), le nombre maximum de Diatomées découvertes chez une personne noyée est de 20 Diatomées/100 g de tissu pulmonaire et de 13 Diatomées pour 100 g de foie. Pachar et Cameron (1992) ont découvert de 5 à 25 Diatomées pour 100 g de tissu pulmonaire et 10 Diatomées pour les autres organes.

Dans notre étude, aucune Diatomée n'a été retrouvée dans les échantillons tissulaires. Pour éviter la contamination des tissus par des Diatomées présentes sur la vaisselle, cette dernière doit être décontaminée dans une solution molaire de soude. Les différentes solutions et les réactifs employés doivent être filtrés avant leur emploi. Le prélèvement d'eau notamment en profondeur permet de dénombrer un nombre d'algues suffisant pour déterminer les espèces dominantes notamment en grattant les pierres prélevées dans le lit des cours d'eau. Nous conseillons le prélèvement en profondeur plutôt que celui des eaux de surface qui sont fréquemment pauvres en Diatomées (4).

Le diagnostic d'inhalation ne peut être prononcée que si l'analyse de la microflore donne le même résultat aussi bien dans les tissus des victimes que dans les échantillons d'eau.

Les analyses sont positives et concordantes dans l'eau et uniquement dans le tissu pulmonaire dans 60% des cas étudiés. Ce résultat est supérieur à celui de la série de 107 cas décrit par Auer et Mottonen (1) qui est de 30,8%. Timpermann (1972) suggère que la découverte de Diatomées en nombre suffisant dans le poumon uniquement peut être en faveur d'une courte période d'agonie. L'inhalation d'eau peut être fortement suspectée mais non affirmée sur un résultat positif dans le tissu pulmonaire dans la mesure où les algues pourraient pénétrer passivement dans les alvéoles

pulmonaires par l'action de la pression hydrostatique si le corps est immergé à grande profondeur (supérieur à 3-4 m). Cette pénétration est facilitée par la putréfaction des tissus. Toutefois dans notre série limitée, le diagnostic d'inhalation est positif dans 30% des cas. Ce résultat est supérieur à celui de 20% rapporté par Neidhard et Greedyke (1967) et inférieur aux 57,9% donné par Auer et Mottonen (1988). La méthode de digestion par la protéinase K semble être la plus aisée et la plus rapide et permet d'éviter l'emploi d'acides forts (Kobayashi *et al.*, 1993; Ludes *et al.*, 1994).

CONCLUSION

La recherche qualitative et quantitative des Diatomées dans les tissus d'une victime et dans l'eau d'immersion peut constituer un argument en faveur d'une inhalation. Toutefois la noyade peut être suspectée quand un nombre suffisant de Diatomées de même espèce est découvert aussi bien dans les tissus que dans l'eau d'immersion. Dans ces cas, les algues ont pénétré dans la circulation sanguine et dans les organes à partir des poumons.

Une analyse négative n'exclut pas une noyade dans la mesure où l'eau d'immersion est parfois très pauvre en Diatomée et où le décès d'une personne retrouvée dans l'eau peut également résulter d'autres mécanismes qu'une inspiration massive d'eau. Pour nous, la digestion enzymatique des tissus par la protéinase K est la méthode de choix.

Même si l'interprétation des résultats est délicate, la recherche des Diatomées dans les tissus d'une victime et dans l'eau d'immersion doit être réalisée de façon systématique. Le diagnostic de noyade est porté en fonction de l'ensemble des données cliniques et biologiques recueillies lors de l'autopsie et de tous les examens complémentaires réalisés (examens histologiques et toxicologiques).

BIBLIOGRAPHIE

- AUER A., M. MOTTONEN M., 1988. Diatoms and drowning. *Z. Rechtsmedizin*, **101** : 87-98.
- GYLSETH B., G. MOWE, 1979. Diatoms in lung tissue. *Lancet*, **29** : 1375.
- KOBAYASHI M., Y. YAMADA, W.D. ZHANG, Y. ITAKURA, M. NAGAO, T. TAKATORI, 1993. Novel detection of plankton from lung tissue by enzymatic digestion method. *For. Sci. Int.*, **60** : 81-90.
- LUDES B., S. QUANTIN, M. COSTE, P. MANGIN, 1994. Application of a simple enzymatic digestion method for diatom detection in the diagnosis of

drowning in putrefied corpses by diatom analysis. *Int. J. Leg. Med.*, **107** : 37-41.

NEIDHART D.A., R.M. GREEDYKE, 1967. The significance of diatom demonstration in the diagnosis of death by drowning. *Am. J. Clin. Path.*, **48** (4) : 377-382.

PACHAR J.V., J.M. CAMERON, 1992. Submersion cases : a retrospective study 1988-1990. *Med. Sci. Law*, **32** : 15-17.

PEABODY A.J., R.M. BURGESS, 1980. Diatoms and drowning. *Med. Sci. Law*, **20** (4) : 254-261.

POLSON C.J., D.J. GEE, B. KNIGHT, 1985. Drowning. In *The Essentials of Forensic Medicine*. Pergamon Press, Oxford, p. 421-428.

SCHELLMANN B., W. SPERL, 1979. Nachweis im Knochenmark (Femur) Nichtertrunkener. *Z. Rechtsmedizin*, **83** : 319-324.

TIMPERMAN J., 1972. The diagnosis of drowning. A review. *For. Sci. Int.*, **1** : 397-407.

Reçu le 21 novembre 1994; received November 21, 1994
 Accepté le 31 janvier 1995; accepted January 31, 1995

BIBLIOGRAPHIE DISCUSSION

Une analyse négative n'exclut pas une noyade dans le cas de l'eau d'immersion car parfois les diatomés sont rares et on se décide à une poursuite en diatomés et on peut également trouver dans le sang et dans les organes à partir des pontons. Une analyse négative n'exclut pas une noyade dans le cas de l'eau d'immersion car parfois les diatomés sont rares et on se décide à une poursuite en diatomés et on peut également trouver dans le sang et dans les organes à partir des pontons.

Une analyse négative n'exclut pas une noyade dans le cas de l'eau d'immersion car parfois les diatomés sont rares et on se décide à une poursuite en diatomés et on peut également trouver dans le sang et dans les organes à partir des pontons.

Une analyse négative n'exclut pas une noyade dans le cas de l'eau d'immersion car parfois les diatomés sont rares et on se décide à une poursuite en diatomés et on peut également trouver dans le sang et dans les organes à partir des pontons.

Une analyse négative n'exclut pas une noyade dans le cas de l'eau d'immersion car parfois les diatomés sont rares et on se décide à une poursuite en diatomés et on peut également trouver dans le sang et dans les organes à partir des pontons.

Il est essentiel de tenir compte lors de l'interprétation des résultats de la recherche des diatomés des possibilités de contamination dans la présence de diatomés dans les tissus pulmonaires de personnes non noyées. Pour Polson et coll. (1987) le nombre maximum de diatomés retrouvés chez une personne noyée est de 20 diatomés/100 g de tissu pulmonaire et de 15 diatomés pour 100 g de sang. Pachar et Cameron (1992) ont découvert de 2 à 25 diatomés pour 100 g de tissu pulmonaire et 10 diatomés pour les autres organes.

Dans notre étude, aucune diatomée n'a été retrouvée dans les échantillons testés. Pour éviter la contamination des tissus par des diatomés présents sur la vasculature, ceux-ci ont été soigneusement lavés dans une solution moussante de savon. Les diatomés retrouvés et les résultats envoyés doivent être vérifiés avant leur envoi. Le prélèvement de sang notamment en prélevant par le dénombrer un nombre d'algues suffisant pour déterminer les espèces dominantes notamment en gardant les parties prélevées dans le fil des courts et courts. Nous conseillons le prélèvement en prélevant par le dénombrer un nombre d'algues suffisant pour déterminer les espèces dominantes notamment en gardant les parties prélevées dans le fil des courts et courts.

Nous conseillons le prélèvement en prélevant par le dénombrer un nombre d'algues suffisant pour déterminer les espèces dominantes notamment en gardant les parties prélevées dans le fil des courts et courts.

BIBLIOGRAPHIE DISCUSSION

LUDES B., S. QUANTIN, M. COSTE, P. MANGIN, 1994. Application of a simple enzymatic digestion method for diatom detection in the diagnosis of drowning. *X. Rechtsmedizin*, **101** : 87-92.

GYLSETH E., G. MOWE, 1979. Diatoms in lung tissue. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **87** : 147-152.

KOHAYASHI M., Y. YAMADA, W.B. ZHANG, Y. ITO, K. KUBO, M. KAGAO, T. TAKATORI, 1993. Novel detection method for diatoms from lung tissue by enzymatic digestion method. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **101** : 84-90.

LUDES B., S. QUANTIN, M. COSTE, P. MANGIN, 1994. Application of a simple enzymatic digestion method for diatom detection in the diagnosis of drowning. *X. Rechtsmedizin*, **101** : 87-92.

GYLSETH E., G. MOWE, 1979. Diatoms in lung tissue. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **87** : 147-152.

KOHAYASHI M., Y. YAMADA, W.B. ZHANG, Y. ITO, K. KUBO, M. KAGAO, T. TAKATORI, 1993. Novel detection method for diatoms from lung tissue by enzymatic digestion method. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **101** : 84-90.