



HAL
open science

Apports mutuels de l'archéologie aux problématiques médicales et médico-légales

Anaïs Augias

► **To cite this version:**

Anaïs Augias. Apports mutuels de l'archéologie aux problématiques médicales et médico-légales. Anthropologie biologique. Université Sorbonne Paris Cité, 2017. Français. NNT : 2017USPCB266 . tel-03709925

HAL Id: tel-03709925

<https://theses.hal.science/tel-03709925>

Submitted on 30 Jun 2022

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.

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES

Faculté de Médecine

Année 2017

THÈSE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ PARIS-DESCARTES
SCIENCES JURIDIQUES, POLITIQUES, ÉCONOMIQUES ET DE GESTION

**APPORTS MUTUELS DE L'ARCHÉOLOGIE AUX
PROBLÉMATIQUES MÉDICALES ET MÉDICO-LÉGALES**

Présentée et soutenue publiquement par

Anaïs AUGIAS

Le 26 septembre 2017

Dirigée par le Docteur Philippe Charlier
et co-dirigée par le Professeur Jean-Paul Demoule

Devant un jury composé de :

Alain FROMENT, Docteur, HDR - Rapporteur

Kaare Lund RASMUSSEN, Maître de conférences, HDR - Rapporteur

Philippe SANSONETTI, Professeur, HDR - Examineur

Marie-France MAMZER, PU-PH - Examineur

Céline BON, Maître de conférences - Examineur

Marie-Caroline MEYOHAS, PU-PH - Examineur

REMERCIEMENTS

Un très grand merci à **Philippe Charlier** (*Équipe d'Anthropologie Médicale et Médico-Légale, UFR des Sciences de la Santé (UVSQ, AP-HP)*), **Jean-Paul Demoule** (*Université de Paris 1, UMR 8215 Trajectoire, MAE Nanterre*) et **Philippe Sansonetti** (*Institut Pasteur, Département de biologie cellulaire et Infection. Unité de Pathologie Microbienne moléculaire (INSERM U786), PR Collège de France*) de m'avoir offert l'opportunité de travailler à leurs côtés. Merci pour votre encadrement, votre enseignement, votre soutien et votre confiance.

Merci aux **membres du jury** d'avoir accepté l'évaluation de ce volume.

Pour leurs collaborations et expertises, un grand merci à :

L'équipe d'Anthropologie Médicale et Médico-Légale (UVSQ) pour ces trois années enrichissantes : **Philippe Froesch** (*Visualforensic*) pour la reconstitution en 3D de la dynamique du bandeletage d'Henri IV, **Patrick Rainsard** pour ses expertises dentaires, **Fanny Rengot** pour ses conseils relatifs au cadre juridique et la relecture de ce volume, **Nadia Benmoussa** pour ses expertises crâniennes, **Virginie Turreil** et **Sophie Jacqueline**.

Joël Poupon (*Laboratoire de toxicologie biologique, CHU Lariboisière*) pour les analyses élémentaires sur l'eau du Gange, le sédiment de Lalibela et les dépôts latrinaires.

Danielle Gourevitch (*Ecole pratique des Hautes Etudes (IVe section), sciences historiques et philologiques, en Sorbonne*), **Elodie Prot** et **Christine Etchemendigaray** (*Département de Maïeutique, UFR des sciences de la santé, Simone VEIL, UVSQ*) pour notre collaboration sur l'étude de l'expulsion fœtale *post-mortem*.

Laurent Olivier (*Département des âges du Fer au Musée des Antiquités nationales de Saint-Germain-en-Laye*) et **Marylène Patou-Mathis** (*CNRS, Unité d'Archéozoologie du Laboratoire de Préhistoire du Muséum et responsable des collections ostéologiques (faune) de l'Institut de Paléontologie Humaine*) pour notre collaboration autour du site de Bergères.

Isabelle Huynh-Charlier (*Département de Radiologie, Université Hôpital Pitié-Salpêtrière, France*) et **Anne-Laure Muller-Chauveau** (*Département de Radiologie, Hôpital Saint-Camille*) pour la mise à disposition d'outils d'imageries sur de nombreux cas.

Raphaël Weil (*Laboratoire de Physique des Solides, UMR CNRS 8502, Université Paris-Sud XI*) pour analyses microscopiques et chimiques sur le squelette du puits de la Place du Jeu de Paume à Beauvais et des dépôts latrinaires.

Julie Nogel Jaeger (*Department of Physics, Chemistry and Pharmacy, Southern University of Denmark, Odense, Denmark*) pour les analyses chimiques des fractures sur le squelette du puits de la Place du Jeu de Paume à Beauvais.

Hélène Labit (*UMR 8167 Orient et Méditerranée, Paris 4 Sorbonne et Université de Tunis- La Manouba*) pour la relecture de ce volume.

Britta McMullan-Weitzel (*North Carolina State University Graduate Program, Raleigh, NC, USA*) et **Rachel Perash** (*Confederated Colville Tribes, USA*) pour la relecture et les corrections des articles en anglais.

Pour le projet Collège de France/Institut Pasteur sur l'étude du microbiome, un grand merci :

Aux départements « Microbiologie et Maladies infectieuses » du **Collège de France** et « Biologie cellulaire et infection » de l'**Institut Pasteur** de m'avoir fait confiance sur ce projet. Au plateau « Paléogénomique et Génétique Moléculaire » du Muséum National d'Histoire Naturelle sur le site du **Musée de l'Homme**, pour avoir fourni l'assistance technique nécessaire aux expériences de laboratoire réalisées dans cette étude, et **Céline Bon** et **Laure Ségurel** (*UMR7206 Eco-anthropologie et Ethnobiologie. Département Hommes, Natures et Sociétés. Musée de l'Homme*) pour l'extraction ADN d'échantillons latrinaires anciens et récents, leur pédagogie et la relecture de la méthodologie de cette thèse.

Sean Kennedy (*Département de génomes et génétique, Institut Pasteur*) pour le séquençage et l'analyse des lectures taxonomiques.

Romain Laurent (*UMR7206 Eco-anthropologie et Ethnobiologie. Musée de l'Homme*) pour l'analyse des lectures taxonomiques.

Françoise Bouchet (*Laboratoire de paléoparasitologie, Faculté de Pharmacie, Reims*) pour son aide et ses conseils dans la lecture des clichés de microscopie.

Annick Heitzmann (*Centre de recherche du château de Versailles*), **Régis Issenmann** (*Éveha - Saint-Avertin*), **Isabelle Caillot** (*Éveha - Ivry-sur-Seine*), **Jérôme Brenot** (*Éveha -*

La Chapelle-Saint-Luc), **Yoann Rabasté** (*Responsable d'opération, Inrap GEN, Centre archéologique de Reims*), **Frédéric Adam** (*Chargé de recherche, Inrap GEN- Metz, UMR 7044 Strasbourg, UMR 7268 Aix-Marseille, Académie Lorraine des Sciences*), **Jean-Marc Fémolant** et **Laetitia Bouniol** (*Service archéologique de Beauvais*), **Benjamin Van Den Bossche** et **Aloïs Corona** (*Service Archéologique Départemental des Yvelines*), **David Delassus** (*Service archéologique de Valenciennes*), **Ludovic Decock** (*Inrap La Courneuve*), **Catherine Brut** (*DHAAP*), **Jean-Sylvain Caillou** et **Dominic Hofbauer** (*Programme archéologique du château de Chambord*) et **Gilles Desplanque** (*Département de l'Aisne*) pour la mise à disposition d'échantillons latrinaires anciens et modernes.

Merci aux chers membres de ma famille encore à mes côtés (Isabelle et Francine Henry, Francis et Andy Augias et Dimitri Merly) et malheureusement disparus (Albert Henry, René et Denise Augias) ainsi qu'à mes amies et archéo-voyageuses (Hélène Labit, Ludivine Cosialls, Virginie Tourreil et Capucine Grosjean), pour leur amour et leur soutien dans les bons comme les plus durs moments.

Les mots accompagnés d'un * sont définis dans le Glossaire en fin de volume.

SOMMAIRE

Introduction	6
PARTIE I.	
Médecine rétrospective. Quand la médecine légale réécrit le passé.	14
<hr/>	
CHAPITRE 1. Diagnostic médical de dépôts archéologiques osseux.....	15
1.1 La paléopathologie	15
1.1.1 La tracéologie osseuse.....	17
Article n°1 - An incomplete fatal trepanation diagnosed on cremation remains (Rome, Italy, 2ND C. AD).....	19
Article n°2 – Anthropologie de la profanation : des traces de pillage ancien sur la nécropole celtique de Bergères, Champagne-Ardenne (Aude).....	26
Article n°3 - Radio-scannographic correlation of Harris lines in adults: Forensic and anthropological perspectives.....	34
1.1.2 Naissance d'une pathologie.....	43
Article n°4 - Une histoire biologique du cancer.....	44
Article n°5 - Un lépreux pagétique (Maladrerie Saint-Lazare, Beauvais).....	47
1.1.3 La mauvaise mort : cas archéo-pédiatriques.....	61
Article n°6 - Une archéologie de la parturition chez les pré-humains : tendances évolutives et limites.....	64
Article n°7 - <i>Post-mortem</i> fetal expulsion : Forensic anthropology lessons from the archaeological field.....	68
Article n°8 - Dental anomalies of a French Iron-age « vampire » : a forensic point of view for evil-eye and <i>post-mortem</i> practices.....	74

Article n°9 - Un cas de fœtotomie, La Tène (399-303 av. J.-C.), Cagny (14).....	89
Article n°10 - Technical note and forensic lessons from the past : Radiological examination of human immature remains.....	101
1.2 La pathographie : l’Histoire comme patient.....	107
1.2.1 L’embaumement : pratique de l’élite mondiale.....	109
Article n° 11 - Endogenous fluorescence analysis : preliminary study revealing the potential of this non-invasive method to study mummified samples.....	110
Article n°12 - The embalming of John of Lancaster, first Duke of Bedford (1435 AD) : A forensic analysis.....	119
Article n°13 - Detection of an embalming stripping on a French royal mummified head (Henri IV, 1610) : virtual reconstruction of a technical gesture, applicability in forensics.....	129
1.2.2 La chevelure : marqueur de pouvoir.....	139
Article n°14 - Into the wax : forensic and anthropological analysis of human hairs in Merovingian and Carolingian royal seals (France).....	140
Article n°15 - Helium ion microscopy (HIM) : Proof of the applicability on altered human remains (hairs of Holy Maria-Magdalena).....	147
 CHAPITRE 2. La tradition : une archéologie immatérielle et périssable révélée.....	 150
2.1 Analogie ethnographique.....	152
Article n°16 - “What is a dead body?” Confrontation of sub-Saharan Africa versus French medical students’ attitudes toward autopsy related beliefs.....	154
Article n°17 - Haitian voodoo dolls revealed by X-ray : From radiology to medical anthropology.....	166
Article n°18 - Virtual autopsy of a funeral <i>Muzidi Bembe</i> doll : interest of imaging for analysis of primitive art object.....	172
Article n°19 - En quoi un masque africain est-il un patient comme les autres ?	179
Article n°20 - Pratiques magico-religieuses contre la maladie et la mort en Éthiopie....	190

2.2 Question sanitaire des pratiques rituelles.....	195
Article n°21 - Kumbha Mela ; du rituel d’immersion à l’éco-toxicologie du Gange.....	196
CHAPITRE 3. Contextualisation des échanges inter-disciplinaires. Ethique des pratiques.....	208
3.1 Archéologie judiciaire.....	208
Article n°22 - Ante-, péri- ou post-mortem ? Profil de fracturation en contexte humide : le cas du dépôt en puits (II –III siècles apr. J.- C.) de la place du Jeu-de-Paume, Beauvais (Oise).....	217
Article n°23 - Mudslide and/or animal attack are more plausible causes and circumstances of death for AL 288 (« Lucy »).....	223
3.2 De l’exposition à la relecture	235
Article n°24 - Did the Romans die of antimony poisoning? The case of a Pompeii water pipe (79 AD).....	236
Article n°25 - The brain of René Descartes (1650) : A neuro-anatomical analysis.....	252
Article n°26 - Human remains exhibition and ethics principles : A French medical experience and evaluation.....	260
Article n° 27 - Les collections anatomiques : bio-banque de l’histoire des maladies virales.....	269

PARTIE II.

Bio-archéologie : se préparer à explorer le microbiome de nos ancêtres..... 272

Article n°28 - Could health only be defined by an equilibrated microbiome ?..... 278

Article n°29 - Re-emerging infectious diseases from the past: Hysteria or real risk?..... 281

CHAPITRE 1. Corpus et méthodes..... 290

1.1 Contexte archéologique des écofacts..... 290

1.1.1 Latrines romaines du Quartier du théâtre de Délos, Grèce (IIe s. BC)..... 290

1.1.2 Maison-forte de Chambly (XII-XIV^e siècles)..... 292

1.1.3 Château de Marly (XVIII^e s.)..... 295

1.1.4 Latrines de la Grande guerre (1914-1918)..... 298

1.1.4.1 Isles-sur-Suippe « Sohettes et Val des Bois », Warmeriville 299

1.1.4.2 Le Bonnet de Coton (LBC), Forêt d'Argonne..... 301

1.1.4.3 « Le bas de la Noue St Rémi », Cernay-lès-Reims..... 302

1.1.5 Camps de prisonniers allemands, Stenay "les groseilliers", Meuse (1945-1946)..... 303

1.1.6 Latrines actuelles, Beauce (2016)..... 304

1.2. Manipulations et protocoles microbiologiques..... 306

1.2.1 pH..... 306

1.2.2 Analyses élémentaires/toxicologiques..... 306

1.2.3 Examen de microscopie optique et MEB..... 307

1.2.4 Extraction ADN..... 308

1.2.5 La réaction en chaîne par polymérase (PCR)..... 310

1.2.6 Séquençage métagénomiques..... 311

1.2.7 Outil bio-informatique..... 312

CHAPITRE 2. <i>Faeces vivos docent</i>	316
2.1 Résultats et discussion des analyses parasitologiques	316
2.1.1 Microscopie optique et MEB.....	317
2.1.2 Analyses élémentaires.....	330
2.1.3 Extraction ADN.....	337
2.1.4 Etude des données taxonomiques brutes.....	338
2.1.5 Contrôles qualitatif et quantitatif des lectures taxonomiques.....	343
2.1.6 Résultats et discussion des données taxonomiques brutes.....	362
2.2 Bilan préliminaire parasitologique	371
CONCLUSION	375
GLOSSAIRE	381
Liste des figures	388
Liste des annexes	393
ANNEXES	397

Introduction

L'Homme a, depuis toujours, adopté différents comportements sanitaires, sociaux, économiques et magico-religieux, visant à l'amélioration de sa qualité de vie et à l'éradication des maux physiques, psychologiques et spirituels, qui vont influencer son développement. Quatre dynamiques principales, nommées révolutions (cognitive, agricole, scientifique et industrielle)^{1,2,3}, se distinguent :

- La maîtrise du feu (il y a environ 400 000 ans) : la cuisson des aliments favorise la prédigestion, la réduction des bactéries et le réchauffement du corps.
- La Néolithisation (entre 10 000 et 2 000 av. J.-C.) : l'apparition de l'élevage, de l'agriculture et des moyens de stockage donnent lieu à la sédentarisation. Ce nouveau mode de vie engendre une promiscuité et une proximité avec le bétail⁴ et pose des problèmes d'hygiène, en facilitant notamment la propagation des épidémies, comme cela a déjà été observé en 1330 à Tenochtitlan (Mexique).
- Les prémices de la médecine moderne (dès le XVI^e siècle) et les atteintes associées, notamment liés au recours aux métaux lourds (mercure, arsenic, or)⁵.
- Industrialisation (XIX^e siècle) : transformations sociales, environnementales, technologiques et économiques profondes. L'industrie fossile va engendrer une pollution et des problèmes sanitaires importants.

L'association successive de ces comportements a un impact majeur sur l'équilibre individuel et collectif (environnement, social, évolution technique et biologique de son espèce). Avec ces évolutions humaines, les maux se transforment, meurent ou apparaissent, à l'instar de l'intolérance au lactose induite par l'adoption de l'agriculture⁶, l'apparition du cancer⁷ et autres lésions physiques lourdes que les chamans, apothicaires, alchimistes et médecins s'efforcent de vaincre. Ces derniers n'ont de cesse d'innover pour palier à ces

¹ DEMOULE J.P. *La révolution néolithique*. Paris, Le Pommier, 2017.

² BEAUCHAMP C. *Révolution industrielle et croissance au XIX^e siècle*, Paris, Ellipses Marketing, 1997.

³ HARARI Y.N. *Sapiens. Une brève histoire de l'humanité*. Paris, Albin Michel, 2014.

⁴ DEMOULE J.P. *La révolution Néolithique. Naissance de l'agriculture*. Paris, Le Pommier, 2015.

⁵ POUPON J., POLET C. Analyse élémentaire des restes humains anciens : aspects nutritionnels, toxicologiques et environnementaux. In : CHARLIER P. *Ostéo-archéologie et techniques médico-légales : tendances et perspectives. Pour un Manuel pratique de paléopathologie humaine*. Paris, De Boccard, 2008.

⁶ GAMBA C. *et al.* Genome flux and stasis in a five millennium transect of European prehistory. *Nat. Commun.* 2014 ; 5 : 5257.

⁷ CHARLIER P., AUGIAS A., JACQUELINE S., BENMOUSSA N., HUYNH-CHARLIER I. Une histoire biologique du cancer. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 2016 ; 44 : 724-729.

atteintes physiques et repousser la mort en intervenant très tôt sur le corps humain au moyen de la chirurgie (des cas de trépanations^{8,9,10,11} et d'amputations¹² ont été attestés dès le Néolithique) ou d'une pharmacopée issue du monde naturel (végétal, animal et minéral).

Le caractère préhistorique de l'usage des plantes médicinales est notamment perceptible par analogie avec des sociétés traditionnelles ou indigènes actuelles mettant en place des « thérapies médicamenteuses qui impliquent l'usage de médicaments à base de plantes, parties d'animaux et/ou minéraux »¹³ et par le biais d'observations primatologiques^{14,15,16,17,18,19}. Les sources directes d'une pharmacopée nous parviennent grâce à l'archéologie et, dès la naissance de l'écriture²⁰, grâce aux écrits d'auteurs anciens tels que

⁸ BROCA P. Sur les trépanations préhistoriques. *Bulletins de la Société d'anthropologie de Paris* 1876 ; 11(1) : 236-256.

⁹ DE NADAILLAC A. Mémoire sur les trépanations préhistoriques. *Comptes rendus des séances de l'Académie des Inscriptions et Belles-Lettres* 1886 ; 30(2) : 280-294.

¹⁰ CHAUVET D., SAINTE-ROSE C., BOCH A. L. The mystery of prehistoric trepanations: Is neurosurgery the world eldest profession? *Neurochirurgie* 2010 ; 56(5) : 420–425.

¹¹ CHARLIER P., CATALANO P., DIGIANNANTONIO S. La paléochirurgie ou la naissance de la chirurgie: Une trépanation à Rome à l'époque impériale : un exemple pratique de neurochirurgie antique. *Journal de Chirurgie* 2006 ; 143(5) : 323–324.

¹² BUQUET-MARCON C., *et al.* A possible Early Neolithic amputation at Buthiers-Boulancourt (Seine-et-Marne), France. *Antiquity* 2009, [En ligne] Disponible sur <http://www.antiquity.ac.uk/projgall/buquet322/>, consulté le 11.03.2017.

¹³ Stratégie de l'OMS pour la Médecine Traditionnelle pour 2002–2005, [En ligne] Disponible sur <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s2298f/s2298f.pdf>, consulté le 25.04.2017.

¹⁴ KRIEF S. Effets prophylactiques et thérapeutiques de plantes ingérées par les chimpanzés : la notion d'« automédication » chez les chimpanzés. *Primatologie* 2004 ; 6, 2 : 171-191.

¹⁵ WEYRICH L.S. *et al.* Neanderthal behaviour, diet, and disease inferred from ancient DNA in dental calculus. *Nature* 2017 ; 544 : 357-361.

¹⁶ KRIEF S. Do animals use natural properties of plants to self-medicate? *Applied equine nutrition and training* 2012 : 159-170.

¹⁷ KRIEF S., *et al.* Great apes: who are they? Are they able to self-medicate?. *Bulletin de l'Académie nationale de médecine* 2011 ; 195(8) : 1927-35.

¹⁸ LACROIX D., *et al.* Hydroperoxy-cycloartane triterpenoids from the leaves of *Markhamia lutea*, a plant ingested by wild chimpanzees. *Phytochemistry* 2009 ; 70(10) : 1239-1245.

¹⁹ KRIEF S., *et al.* Clinical and pathological manifestation of oesophagostomosis in African great apes. Does self-medication in wild apes influence disease progression?. *Journal of Medical Primatology* 2008 ; 37 (4) : 188-195.

²⁰ JULIEN P. L'histoire de la pharmacie commence au III^e millénaire avant le Christ : Samuel-Norah Kramer, L'Histoire commence à Sumer. *Revue d'histoire de la pharmacie* 1958 ; 46(156) : 254-255.

Platon (V^e siècle av. J.-C.), Hippocrate (460-370 av. J.-C.), Dioscoride (20-90 ap. J.-C.) et Galien (129-216 ap. J.-C.). Au cours des siècles, au gré des découvertes et des échanges culturels (commerciaux et militaires, migrations de populations, etc.), plusieurs centaines de plantes médicinales (cultivées, indigènes ou orientales) sont consignées. La flore disponible a ainsi soigné pendant des milliers d'années nos ancêtres et contribue à l'équilibre symbiotique naturel entre l'Homme et son environnement.

L'introduction de métaux dans les remèdes thérapeutiques apparaît en Orient, dès le Haut Moyen-âge, grâce à des savants tels que Jâbir ibn Hayyân al Bariqi al-Azdi (721-815), dit Geber²¹, bien que cette attribution soit discutée²², ou Avicenne (980-1037)²³.

En Occident, il faut attendre le XVI^e siècle et l'épidémie de syphilis pour que la chimie soit introduite en physiologie et en pathologie, avec notamment le mercure²⁴, grâce à des médecins comme Paracelse (1493-1541)²⁵, lequel préconisait également l'antimoine pour purifier le corps et l'or contre la lèpre. Cette approche va mener certains médecins du XVII^e siècle à prescrire à outrance des mixtures thérapeutiques à base de mercure, de nitrate d'argent, de sulfate de zinc, de calomel, de tartre de sodium et de potassium, de magnésie, etc.²⁶. En parallèle, on note l'émergence d'aberrations médicamenteuses composées d'urine, d'excréments, de graisse humaine et de momies égyptiennes²⁷. L'ensemble de ces traitements sont alors réservés aux plus influents et implique des dérives sanitaires considérables²⁸.

La médecine vit un tournant majeur au XVII^e siècle avec la perception de l'infiniment petit et leur possible rôle pathogène grâce au savant Antoni Van Leeuwenhoek²⁹ ainsi qu'à une notion d'hygiène plus poussée, comme l'idée d'une conservation de la viande par le froid

²¹ DILLEMANN G. La pharmacopée au Moyen-âge. II. Les médicaments. *Revue d'histoire de la pharmacie* 1969 ; 57 (200) : 235-244.

²² BERTHELOT M. *La chimie au Moyen-âge. I (Ed. 1893)*. Amsterdam, Hachette, 1967.

²³ LE BEGUE DE PRESLE A.G. *Mémoire pour servir à l'histoire de l'usage interne du mercure sublimé corrosif*. Paris, A la Haye, 1764.

²⁴ TILLES G., WALLACH D. Le traitement de la syphilis par le mercure. *Histoire des sciences médicales*. 1996 ; 30(4) : 501-510.

²⁵ DOUSSET J.C. *Histoire des médicaments. Des origines à nos jours*. Paris, Payot, 1985.

²⁶ *Ibid.*

²⁷ *Ibid.*

²⁸ CHARLIER P. *et al.* Fatal alchemy. Did gold kill a 16th century French courtesan and favourite of Henri II, ask. *BMJ* 2009 ; 339 : 1402-1403.

²⁹ FINLAY BJ., ESTEBAN GF. Exploring Leeuwenhoek's legacy : the abundance and diversity of protozoa. *International Microbiology* 2001 ; 4(3) : 125-133.

diffusait par Bernard de Jussieu (1699-1777) et Antoine Parmentier (1737-1813)³⁰. Ce dernier s'engage, en effet, pour l'amélioration de l'hygiène, de la qualité de l'eau, de l'air, de la terre (contrôle des exhumations) et des aliments avec des techniques de conserves par l'ébullition³¹. Dès lors, d'importantes innovations vont marquer l'environnement sanitaire et avoir un impact, sans précédent depuis la Néolithisation, sur notre quotidien avec de nouvelles manières de consommer et de stocker grâce à la première machine frigorifique (1805) et à la pasteurisation (1865).

En parallèle, les expériences chimiques et biologiques vont s'intensifier et les produits s'industrialiser, avec notamment l'apparition en 1796 du premier vaccin, en l'occurrence contre la variole. Il s'agit désormais d'introduire des bactéries issues de micro-organismes dans l'organisme humain afin de combattre les bactéries responsables d'une infection. Une réelle frénésie de la vaccination s'enclenche, engendrée par une meilleure compréhension des mécanismes bactériologiques, l'isolement des molécules curatives et l'émergence d'épidémies. Ainsi, entre 1885 et 2006, apparaissent successivement les vaccins contre la rage, la fièvre typhoïde, la peste, la tuberculose, la diphtérie, le tétanos et la coqueluche, la fièvre jaune, le typhus, la grippe, la poliomyélite, l'encéphalite japonaise, l'adénovirus, la rougeole, la rubéole, les oreillons, la varicelle, le pneumocoque, le méningocoque, l'hépatite B, l'hémophilus, l'hépatite A, la borréliose et le rotavirus et le papillomavirus.

Dans cet élan, l'entre-deux guerres marque une période charnière ; les dégâts physiques majeurs (traumatiques, épidémiques, infectieux) accroissent le désir de soulager et de traiter. La découverte des propriétés fauniques antibactériennes et la possibilité d'en isoler les molécules médicinales mènent à la création d'antibiotiques. Ainsi, l'étude par Alexander Fleming (1881-1955) du champignon *Penicillium notatum*^{32,33} permet l'isolement de la pénicilline en 1928, et sa large utilisation thérapeutique dès 1941. Dès lors, l'usage d'antibiotiques s'étend massivement jusque dans l'agriculture et l'élevage dans les années 60, de façon quasiment industrielle.

³⁰ DOUSSET J.C. *Histoire des médicaments. Des origines à nos jours*. Paris, Payot, 1985.

³¹ PARMENTIER A. Dissertation physique, chimique et économique sur la nature et la salubrité des eaux de la Seine. Observation sur la physique, sur l'histoire naturelle et sur l'art 1775 ; 5 : 161-194.

³² FLEMING A. On the Antibacterial Action of Cultures of a *Penicillium*, with Special Reference to their Use in the Isolation of *B. influenzae*. *British journal of experimental pathology* 1929 ; 10(3) : 226-236.

³³ BEAULIEU J. Une formule étrange : guerres + négligence = pénicilline. *Médecine* 2013 ; 9(7) : 329-330.

Ainsi, trois étapes médicales majeures (souvent associées à des pratiques magico-religieuses) se distinguent : l'utilisation « primaire » des ressources naturelles natives, l'extraction de leurs molécules curatives puis leurs synthèses. La maîtrise de cet écosystème microscopique mène, à terme, à l'extraction ADN et aux manipulations microbiologiques actuelles.

Parallèlement à ce mouvement hygiéniste, se développent des outils technologiques pointus comme la radiographie en 1895 permettant une meilleure compréhension anatomique sans intervention chirurgicale. Cette histoire médicale, et les outils médicaux qui en découlent, répondent à l'appréhension de la mécanique de l'Homme sous bien d'autres aspects tels que l'Histoire ou l'Archéologie.

Dès sa reconnaissance académique, grâce à Champollion au Collège de France à partir de 1831³⁴, l'archéologie a su intégrer les méthodes d'autres disciplines scientifiques et leurs nouvelles technologies au profit de ses théories. Cette démarche a ainsi largement été mise à profit dans les problématiques évolutives et a permis de revoir certains modèles préconçus relatifs aux origines de l'Homme. La géologie, et notamment la stratigraphie, a été utilisée par des scientifiques comme Jacques Boucher de Perthes (1788-1868) dans le but de démontrer l'existence antédiluvienne de l'Homme, non reconnu par les principes bibliques^{35,36}. La zoologie a permis de comprendre les moyens de subsistance, la gestion des troupeaux et les déplacements des populations anciennes. En 1898, soit trois ans après leur découverte, les rayons X sont appliqués sur les momies égyptiennes³⁷ et, quelques années plus tard, la recherche parasitologique est employée sur ce même type de matériel humain³⁸, permettant la

³⁴ PERRIN-SAMINADAYAR E. *Rêver l'archéologie au XIXe siècle : de la science à l'imaginaire*. Université de Saint-Etienne, 2001.

³⁵ HUREL A, COYE N. *Dans l'épaisseur du temps. Archéologues et géologues inventent la préhistoire*. Paris, Publications scientifiques du Museum, coll. « Archives », 2011.

³⁶ SCHNAPP A. *La conquête du passé : aux origines de l'archéologie*. Paris, Editions carré, 1993.

³⁷ COQUEUGNIOT H. Paléo-imagerie par rayons X : une méthode d'exploration transdisciplinaire, de l'archéologie à la chirurgie. In : BALASSE M, DILLMANN P. *Regards croisés : quand les sciences archéologiques rencontrent l'innovation*. Paris, Éditions des Archives Contemporaines - Collection Sciences Archéologiques, 2017.

³⁸ RUFFER M.A. Note on the presence of *Bilharzia haematobium* in Egyptian mummies of the twentieth dynasty (1250-1000 BC), *British Medical Journal* 1910 ; 1(2557) : 16.

détermination des pathologies internes anciennes. Dès 1984, l'extraction ADN est utilisée sur les momies égyptiennes³⁹ et sur des restes anciens de chevaux⁴⁰.

Cette ouverture transdisciplinaire amorce de nouveaux champs d'exploration et la relecture de théories relatives au « foyer originel », mettant en avant la difficulté d'établir une origine commune, puis mettant en cause des concepts parfois égocentrés à l'instar de la question du peuple indo-européen⁴¹. L'archéologie s'est ainsi enrichie des outils macroscopiques et microscopiques d'autres disciplines. Au-delà de cela, elle a su élaborer des méthodes fiables d'identification et de compréhension d'un dépôt, jusqu'à devenir à son tour un apport dans d'autres disciplines relatives à l'humain, pouvant offrir de nombreuses réponses aux problématiques scientifiques, et notamment judiciaires et médicales.

Un des pionniers de ce désir de mutualisme entre archéologie et médecine est, sans conteste, Don Brothwell (1933-2016). Cet archéologue et anthropologue a su tirer parti des outils biomédicaux, notamment avec l'étude d'Ötzi (5300 ans av. J.-C.)⁴². L'apport d'un rapprochement systématique entre les deux disciplines n'est pas unilatéral, puisque le Pr Brothwell a également mis à disposition les méthodes archéologiques de terrain et de laboratoire au service des autorités judiciaires et des Nations-Unies, dans un souci d'amélioration analytique et de collaboration pérenne dans le cadre d'enquêtes internationales concernant l'inhumation de victimes. Dès la fin des années 50, Don Brothwell œuvre dans un panel non négligeable de disciplines scientifiques telles que l'archéologie, l'anthropologie, la génétique, la médecine, la zoologie et la géologie, représentant un réel exemple dans cette quête actuelle de transdisciplinarité.

En France, les sections académiques restent marquées et les collaborations scientifiques ponctuelles. Pourtant, les frontières et les ponts disciplinaires représentent un atout majeur⁴³. Dans la compréhension des faits relatifs à l'humain, l'archéologie et la médecine sont liées dans une démarche symbiotique relative à la compréhension de

³⁹ PÄÄBO S. Molecular cloning of Ancient Egyptian mummy DNA. *Nature* 1985 ; 314 : 644 – 645.

⁴⁰ HIGUCHI R *et al.* DNA sequences from the quagga, an extinct member of the horse family. *Nature* 1984 ; 312 : 282 – 284.

⁴¹ DEMOULE J.P. *Mais où sont passés les Indo-Européens ? : le mythe d'origine de l'Occident*. Paris, La librairie du XXI^e siècle, 2014.

⁴² BROTHWELL D. Analysis of the hair of the Neolithic Iceman. In : LYNNERUP N., ANDREASEN C., BERGLUND J. *Mummies in the New Millennium*. Copenhagen, Greenland National Museum and Archives, 2003.

⁴³ FLEURY-VILATTE B., HERT P. Frontières disciplinaires. *Questions de communication* 2003 ; 3 : 3-9.

mécanismes humains. La médecine étant animée par une dynamique d'innovation perpétuelle répondant aux pathologies épidémiques ou traumatiques d'un instant T et l'archéologie par une démarche de recherche originelle et évolutive⁴⁴. Cette association représente un atout dans la tentative de mise en place de théories générales, convoitées par toute science⁴⁵, qu'elle soit humaine, sociale, médicale et médicolégale, en prenant en compte les divers contextes humains (sociaux, religieux, physiologiques, environnementaux, etc.) et un recul chronologique nécessaire. La santé devient une réelle préoccupation, qui pourrait alors unir les deux disciplines⁴⁶ dans une dynamique darwinienne.

Dans la continuité de cette quête transdisciplinaire, les recherches entreprises, et ici présentées, bénéficient d'un important mutualisme scientifique où chaque organisme a mis à disposition ses prélèvements, ses données ou ses outils, dans le but d'exposer l'intérêt et les champs d'action de ce rapprochement disciplinaire systématique. En l'occurrence, sont intervenus pour les différentes analyses ;

- les hôpitaux d'Ile-de-France, et notamment le département de radiologie de la Pitié-Salpêtrière et de l'hôpital Sainte-Camille ainsi que le département de toxicologie biologique de Lariboisière,
- les services archéologiques ; Inrap, Evéha, DHAAP, SADY, Val-de-Marne, Beauvais,
- les universités ; le département de Maïeutique et l'équipe d'Anthropologie Médicale et Médico-Légale de l'Université de Versailles-Saint-Quentin-en-Yvelines (UVSQ), le laboratoire de Physique des Solides de l'Université Paris-Sud XI,
- l'entreprise privée de reconstitution faciale Visualforensic.
- les instituts de recherches institutionnelles et muséales tels que le plateau technique Paléogénomique et génétique moléculaire du département Hommes, Natures et Sociétés du Musée de l'Homme (MNHM), le département de génomes et génétique et le département de biologie cellulaire et Infection (unité de Pathologie Microbienne moléculaire) de l'Institut Pasteur ou encore l'Institut de Paléontologie Humaine et la Chaire Microbiologie et Maladies infectieuses du Collège de France.

⁴⁴ DEMOULE J.P., STIEGLER B. *L'avenir du passé : modernité de l'archéologie*. Paris, La découverte, 2008.

⁴⁵ DEMOULE J.P. Théories et interprétations en archéologie. In : DEMOULE J.P., GILIGNY F., LEHOËRFF A., SCHNAPP A. *Guide des méthodes de l'archéologie*. Paris, La découverte, 2009.

⁴⁶ Colloque « Archéologie de la santé. Anthropologie du soin ». Inrap et Musée de l'Homme. 30 novembre/1er décembre 2016 (sous presse).

PARTIE I.

Médecine rétrospective : quand la
médecine légale réécrit le passé.

CHAPITRE 1.

DIAGNOSTIC MEDICAL DE DEPOTS ARCHEOLOGIQUES OSSEUX

1.1 La paléopathologie

Parmi les disciplines « paléomédicales » en pleine essor, issues de l'union de médecins et d'anthropologues, la paléopathologie* fait figure de précurseur.

Les prémices d'observations médicales rétrospectives pourraient être attribués au géologue Marcel de Serres de Mesplès (1780-1862) qui, en 1823, a observé des pathologies osseuses sur des restes humains⁴⁷, premièrement vues sur des animaux fossiles en 1774. Dès 1825, sous l'impulsion de l'autopsie d'une momie par le médecin Augusto Bozzi-Granville (1783-1871)^{48,49}, les premiers diagnostics rétrospectifs sont établis sur les restes humains momifiés. Au milieu du XIX^e siècle, les premières études sur restes humains osseux vont alors s'intensifier avec notamment les écrits d'Hermann Schaafhausen sur les ossements de Néanderthal, de Jules Parrot (1829-1883) sur la préhistoire de la syphilis et les études chirurgicales de Paul Broca (1824-1880)⁵⁰. Une analogie est ainsi mise en place entre les lésions observées sur les pièces anatomiques médicales ainsi que sur la population contemporaine et celles mises au jour en archéologie.

La figure fondatrice de la paléopathologie est le médecin bactériologiste Sir Marc Armand Ruffer. Au début du XX^e siècle, cet hygiéniste réalise des autopsies sur les momies égyptiennes, démontrant ainsi l'antiquité de certaines pathologies^{51,52,53}.

⁴⁷ DE SERRES DE MESPLÈS M. Observations sur les Ossements humains découverts dans les crevasses des terrains secondaires, et en particulier sur ceux que l'on observe dans la caverne de Durfort, Département du Gard. *Bibliothèque universelle des sciences, Belles-lettres et arts faisant suite à la bibliothèque britannique* 1823 : 277.

⁴⁸ GRANVILLE A.B. An essay on Egyptian mummies; with observations on the art of embalming among the ancient Egyptians. *Proc. R. Soc. Lond.* 1825 ; 115 : 269–316.

⁴⁹ DONOGHUE H.D., LEE O.Y.C., MINNIKIN D.E., BESRA G.S., TAYLOR J.H., SPIGELMAN M. Tuberculosis in Dr Granville's mummy : a molecular re-examination of the earliest known Egyptian mummy to be scientifically examined and given a medical diagnosis. *Proc Roy Soc B.* 2010 ; 277 : 51-56.

⁵⁰ CHARON P. Histoire de la Paléopathologie. In : CHARLIER P. (dir), *Ostéo-archéologie et techniques médico-légales : tendances et perspectives. Pour un Manuel pratique de paléopathologie humaine*, De Boccard, Paris, 2008.

⁵¹ RUFFER M.A. Note on the presence of *Bilharzia haematobi* in Egyptian mummies of the twentieth dynasty (1250-1000 B.C.). *British medical journal* 1910 ; 1(2557) : 16.

En parallèle, les méthodes des antiquaires se développent pour laisser place à l'archéologie telle que nous la connaissons aujourd'hui⁵⁴. Dans le domaine du funéraire, avec des personnages tels que Joseph de Baye (1853-1931) ou Emile Rivière (1835-1922), on note l'apparition de la fouille fine, d'enregistrements stricts de la position des os et de leurs connexions, et de premières observations *in situ*⁵⁵. Toutefois, la démarche archéologique reste majoritairement tournée vers la compréhension de l'évolution humaine (origine, mobilité et techniques des sociétés humaines).

La paléopathologie va alors apprécier l'état de santé de ces populations anciennes mais également développer la notion d'individualité dans les problématiques archéologiques. Il va désormais être possible d'appliquer aux sociétés du passé des interprétations médicales liées à la prise en charge des malades (traitements chirurgicaux et médicamenteux), au diagnostic rétrospectif collectif et individuel en rapport avec l'environnement résidentiel, professionnel, climatique ou génétique au moyen d'examen macroscopiques, microscopiques (notamment anatomo-pathologiques et parasitologiques) et radiologiques. Par le biais de cette discipline, les archéologues vont pouvoir reconstituer l'état physique des sociétés du passé et décrire l'évolution des maladies.

Il peut ainsi être possible de proposer des rapprochements familiaux via l'observation de caractères discrets ou de distinguer des mouvements récurrents pouvant s'apparenter à une activité professionnelle, appelés les marqueurs d'activités*, grâce à la présence d'enthésopathies ciblées. Toutes ces informations extrinsèques et intrinsèques sont consignées sur l'os. Cette démarche pourrait s'assimiler à une tracéologie appliquée à l'os humain. La tracéologie est apparue en archéologie préhistorique pour étudier les traces d'utilisation sur les outils lithiques afin d'en déterminer la fonction⁵⁶. Ainsi, l'approche tracéologique peut être appliquée sur l'os humain dans le but de confirmer ou d'infirmer le caractère anthropique ou mécanique d'une lésion-trace par le biais d'outils biomédicaux.

⁵² RUFFER M.A. Arthritis deformans and spondylitis in ancient Egypt. *Journal of Pathology and Bacteriology* 1918 ; 22 : 212-226.

⁵³ RUFFER M.A. *Studies in the palaeopathology of Egypt*, Chicago : The University of Chicago Press, 1921.

⁵⁴ DEMOULE J.P., GILIGNY F., LEHOËRFF A., SCHNAPP A. *Guide des méthodes de l'archéologie*. Paris, La Découverte, 2009.

⁵⁵ CHARON P. Histoire de la Paléopathologie. In : CHARLIER P. (dir), *Ostéo-archéologie et techniques médico-légales : tendances et perspectives. Pour un Manuel pratique de paléopathologie humaine*. Paris, De Boccard, 2008.

⁵⁶ CLAUD E., PLISSON H. Aux origines de la tracéologie. *Bulletin de la Société préhistorique française*. 2006 ; 103(1) : 192-197.

1.1.1 La tracéologie osseuse

La tracéologie osseuse offre une possibilité de reconnaissance des gestes anthropiques par l'observation des négatifs d'outils ou de lésions traumatiques, résultant de pratiques funéraires, d'accidents ou de crimes⁵⁷. Elle renseigne sur les maux physiques des populations du passé et les moyens mis en place pour les soigner, sur les connaissances anatomiques ainsi que sur les erreurs chirurgicales.

Ainsi, par exemple, l'identification de cas anciens de trépanation dans un contexte de crémation, ayant entraîné la mort de l'individu, est importante pour le diagnostic rétrospectif et l'identification des pratiques chirurgicales mais elle informe également sur la notion de professionnalisme chirurgical. En archéologie, par le remontage lithique, les expérimentations et l'observation d'erreurs techniques, il a été possible de restituer les gestes et les intentions des tailleurs lithiques puis de déterminer l'existence de niveaux professionnels⁵⁸. Ainsi, il a été possible de distinguer les gestes d'apprentis, de mettre en évidence l'hypothèse de formations des jeunes par les tailleurs expérimentés et donc un véritable corps de métier durant la Préhistoire.

Cette approche tracéologique va également permettre la distinction entre traces *ante-mortem* et *post-mortem* afin de proposer un diagnostic différentiel ou d'écarter des causes de décès grâce à la taphonomie*. Des incisions, des négatifs apposés sur l'os pourraient alors trouver une explication dans les bioturbations auxquelles il est exposé depuis sa mise en terre. Cette discipline de l'archéologie préhistorique, au-delà de l'archéologie funéraire et biologique, pourrait s'étendre à la médecine légale en établissant des modèles tracéologiques applicables dans le cadre légal afin d'aider à la détermination des causes de décès et si ces dernières sont imputables à un tiers ou non puis à la proposition de causes différentielles. Le cas de l'inhumation en puits révèle, quant à lui, les limites de la démarche tracéologique avec une difficulté à évaluer de manière certaine les causes de ce dépôt en raison du contexte taphonomique.

⁵⁷ KERNER J. *Manipulations post-mortem du corps humain : implications archéologiques et anthropologiques*. Thèse de doctorat en Histoire et Archéologie des mondes anciens. Nanterre, 2016.

⁵⁸ PLOUX S. Technologie, technicité, techniciens : méthode de détermination d'auteurs et comportements techniques individuels. 25 ans d'études technologiques en Préhistoire : bilan et perspectives. *Actes des XIèmes rencontres internationales d'Archéologie et d'Histoire d'Antibes, 18-20 oct. 1990*. 1991 : 201-214.

La tracéologie biologique à partir d'outils scannographiques médicaux va, quant à elle, se concentrer sur les marqueurs osseux issus de stress (maladies, famine, etc.), à l'image des lignes de Harris. Ces dernières sont des stries osseuses qui traduisent un arrêt de la croissance durant le développement de l'enfant résultant d'un stress (famine, maladie, etc.), un déséquilibre biologique gravant l'os. La découverte d'une incidence entre état sanitaire et croissance osseuse provient des observations de Harris en 1926 sur des os longs grâce à la radiographie (1895). En médecine, ces lignes permettent de surveiller l'atteinte osseuse de l'enfant suite à une pathologie afin de contrôler un trouble de la croissance tel qu'une inégalité de longueur⁵⁹. Rétrospectivement, sur les populations archéologiques, ces marqueurs ont été utilisés pour évaluer un stress populationnel durant la croissance⁶⁰.

Au niveau dentaire, l'hypoplasie joue le même rôle dans le diagnostic.

D'autres pathologies peuvent engendrer des atteintes osseuses similaires, et notamment des maladies telles que l'ostéomalacie et ses stries de Looser-Milkman associées, voire des fractures de fatigue.

Comme toute démarche tracéologique, la lecture de ces indices biologiques à partir de la radiographie présente des limites interprétatives, lesquelles vont permettre de revoir les modèles méthodologiques. La complexité tracéologique est telle qu'un diagnostic différentiel ne peut être négligé et le support osseux archéologique peut alors aider en ce sens.

⁵⁹ VARGAS BARRETO B. *Infection ostéoarticulaire de l'enfant (92a)*, Corpus Médical, Faculté de Médecine de Grenoble, 2005.

⁶⁰ ZAMMIT J. Nouvelles perspectives en anthropologie des populations anciennes : paléoépidémiologie et approche de l'état sanitaire. *BMSAP* 1990 ; 2(3) : 149-158.

CHARLIER P., BRUN L., PANTANO P., AUGIAS A., HUYNH-CHARLIER I. An incomplete fatal trepanation diagnosed on cremation remains (Rome, Italy, 2ND C. AD). *Acta med-hist Adriat.* 2014 ; 12(2) : 315-320.

AN INCOMPLETE FATAL TREPANATION DIAGNOSED ON CREMATION REMAINS (ROME, ITALY, 2ND C. AD)

NEDOVRŠENA SMRTONOSNA TREPANACIJA UTVRĐENA NA KREMIRANIM OSTACIMA (RIM, ITALIJA, II. ST.)

Philippe Charlier,^{1,2} Luc Brun,³ Walter Pantano,⁴ Paola
Catalano,⁴ Anaïs Augias,¹ Isabelle Huynh-Charlier¹

SUMMARY

Background: An original case of incomplete (and reasonably fatal) human trepanation is described in this short paper. The diagnosis was made on the cremated remains of a young adult individual who died in Rome, Italy during the 2nd century AD. **Clinical Presentation:** The trepanation was incomplete, as death occurred quickly due to vascular lesions, according to the anatomic analysis of the bone piece. Comparable trepanation from Roman times are described and related to this case. **Conclusion:** Even if archaeological, this case highlights the possibility of such a diagnosis on post-fire fragmented bones. Very suggestive lesions of section are of great interest for the history of such a practice during classical Antiquity. Lastly, from a medical and forensic point of view, such a diagnosis may be of interest during any identification process and research for a cause of death during anthropological analyses.

Keywords: Cremation; forensic anthropology; hemorrhage; history of medicine; iatrogenic death; roman period; neurosurgery; paleopathology

¹ Section of Medical and Forensic Anthropology (UFR of Health Sciences, UVSQ & Paris 5 University EA 4569), 2 avenue de la Source de la Bièvre, 78180 Montigny-Le-Brettonneux, France

² Department of Pathology, University Hospital, Parakou, Benin.

³ Soprintendenza Archeologica di Roma, Sezione di antropologia, Palazzo Altemps, Rome, Italy.

⁴ Department of Radiology, University Hospital Pitié-Salpêtrière (AP-HP), 75013 Paris, France.

Corresponding author: Philippe Charlier, MD, PhD. E-mail: philippe.charlier@uvsq.fr

INTRODUCTION

Cranial trepanation is probably one of the oldest surgical intervention performed by humanity with cases dating towards the Mesolithic period [1,2], followed by amputation [3]. This new case, dating from the Roman Imperial period is exceptional for two reasons. First, this case is the first one of a trepanation diagnosed on Roman cremated remains (another cremated case of a completely healed trepanation has been described in Vronda grave 4, burial 1, from Early Iron Age) [4]. Second, it shows that, despite a relative anatomical precision, death may have occurred as a iatrogenic complication.

METHODS

In 1998, the excavations of the necropolis situated under the Via Trionfale (Rome, Italy) carried out by the *Soprintendenza Archeologica di Roma* put to light 18 cremation tombs dated from the Roman Imperial period (1st to 2nd century AD) according to architectural remains and grave offerings. A total of 8 inhumation tombs were associated to this human group, dating from the Etruscan period (4th to 3rd century AD).

According to new standards of osteo-archaeology, a systematic anthropological examination was carried out on all the human bone samples recovered [5].

RESULTS

During the analysis of the remains of the cremation "Trionfale 6" corresponding to an adult of undeterminable sex (probably a man if we consider the massive aspect of the mandible), an evidence of trauma in form of a trepanation was noted on a fragment of the cranial vault. This oval fragment of cranial vault, measuring 5 x 3.2 centimeters, with a thickness of 0.4 centimeter, presented very smooth and regular external limits [6]. But all the fragment did not show such a peripheral section, as an angle of this piece of bone still presented an irregular spiny aspect, which was broken after death (very likely during the cremation process) [7]. The limits of the piece showed a slight external eversion. The inner table of the bone had not been conserved, due to the fragmentation of the skull with heat and fire [8]. However, we can deduce from vascular and muscular print at the external surface that this fragment of skull vault belonged to the central part of a left or right parietal bone [9].



External view of the vault fragment (measuring 5 x 3.2 centimeters).
Primitively non-cut segment is on the left upper part.

DISCUSSION

The anatomical presentation of such a case is clearly related to an incomplete trepanation (i.e. a trepanation where death occurred before the end of the surgical section). We can so hypothesize a large part of the last hours of this individual.

A trepanation was carried out on the skull of an adult. The reason for such a surgical intervention remains unknown, but medical and general authors from Antiquity (Hippocrates, Celsus, Pliny the Elder, Galen, Heliodorus, etc.) [10] and Etruscan osteo-archaeological examples [11] testified of such a practice for various causes: stroke, epilepsy, headache, trauma, paralysis, blindness, religious facts, magical belief, etc. During the intervention, the practitioner, while cutting the external part of the bone with his surgical instrument (a bronze knife, according to contemporary conserved medical objects), caused a vascular trauma (one of the middle meningeal arteries,

according to the anatomical site of the trepanation, and a comparison with the vascular imprints that can be seen on the endocranial side of comparable parietal vault fragment) provoking a massive and lethal intra-cranial hemorrhage [9]. Death occurred quickly so that the practitioner did not have time to finish his intervention, explaining that a segment of the trepanned bone remained attached to the rest of the cranial vault. Macroscopic aspect of the burnt bones clearly indicate evidence of cremation of fresh bone: the body was then cremated in the few hours or days following death [11] according to Roman Imperial practice; when the skull exploded in the pyre because of gas inflation and rapid dehydration, the piece of bone incompletely removed by the practitioner was broken by fire and “liberated” from the other parts of the skull (giving is its actual aspect).

The examination of all the other parts of the skeleton was not informative about the reason of performing such a dangerous intervention. Severe enthesopathies on both iliac crests and both calcaneus were identified, testifying of an important physical activity. A slight osteo-arthritis existed on the anterior marginal part of all conserved vertebral bodies, related to the adult age of the individual. Three hernia of Schmorl were present on the superior part of three adjacent thoracic body vertebrae [8]. No other pathology/lesions was found on the rest of the skeleton.

Due to the exact presentation of the bone modifications, all differential diagnoses can be excluded: warfare or interpersonal violence trauma (fracture), post-mortem modification such as a cut mark, etc.

We are well documented on cranial surgery at Roman time thanks to contemporary medical books but osteo-archaeological case reports from this period seem to be very few [12-16] and have all been described on complete skeletons. Three corresponded to adults and one to a child of 5 to 6 year-old whose trepanation was associated to hydrocephaly caused by an intracranial expanding lesion. One of the adults had a primitive dental infectious lesion (abscess) complicated by meningo-encephalitis and secondary vertebral abscesses [16].

CONCLUSIONS

This archaeological case from Via Trionfale (Roma) is particularly interesting because it shows the possibility of a diagnosis of trepanation on cremated remains. It is also of great importance in the field of history of neurosurgery, describing an “in progress” trepanation at the moment of death. By extension during medical and/or forensic anthropology analyses, the identification of such a lesion (and its anatomical position) may be of great interest during an identification process (cranial surgical particularity), or for the determination of causes or manner of death.

REFERENCES

1. Silva AM, Ferreira MT. Signs of trauma in an adult parietal bone exhumed from a Portuguese prehistoric collective burial. *Coll Anthropol* 2008;32:633-5.
2. Clower WT, Finger S. Discovering trepanation: the contribution of Paul Broca. *Neurosurgery* 2001;49:1417-25.
3. Buquet-Marion C, Charlier P, Samzun A. A possible early Neolithic amputation at Buthiers-Boulancourt (Seine-et-Marne), France. *Antiquity* 2009;322:83.
4. Liston MA, Preston Day L. It does take a brain surgeon: a successful trepanation from Kavousi, Crete. In Schepartz LA, Fox SC, Bourbou C (ed.), *New directions in the skeletal biology of Greece. Hesperia Suppl. 43*, American School of Classical Studies, Athens (Greece), 2009, pp. 57-73.
5. Van Deest TL, Warren MW, Bolhofner KL. Advances in the anthropological analysis of cremated remains. In Dirkmaat DC (ed.), *A companion to forensic anthropology*. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester (UK), 2012. chapter 20.
6. Schmidt CW, Symes SA (ed.), *The analysis of burned human remains*. London, Academic Press, 2008.
7. Park DK, Park KH, Ko JS, et al. The role of the forensic anthropology in the examination of the Daegu subway disaster (2003, Korea). *J Forensic Sci* 2009;54:513-8.
8. Charlier P, ed. *Ostéo-archéologie et techniques médico-légales*. Paris: De Boccard; 2008.
9. White TD, Folkens PA. *Human osteology*. New York: Academic Press; 1991; 62-63.
10. Jackson R. *Doctors and diseases in the Roman Empire*. London: Norman; 1988.
11. McIntosh Turfa J, Becket MJ. Health and medicine in Etruria. In McIntosh Turfa J (ed.) *The Etruscan world*. London: Routledge, 2013, pp. 855-84

12. Charlier P. Male mort. Morts violentes dans l'Antiquité. Paris, France: Fayard; 2009.
13. Capasso L, Capelli A. A trephined skull from Central Italy (Alba Fucens, Abruzzo) dated from Roman times (1st – 2nd c. A.D.). In: Proceedings of the 9th European Meeting of the Paleopathology Association. Barcelona, Spain: Museu d'Arqueologia de Catalunya; 1995; 103-6.
14. Mariani-Costantini R, Catalano P, Di Gennaro F, et al. New light on cranial surgery in ancient Rome. Lancet 2000;355:30507.
15. Scattarella V, Sublimi Saponetti S, Cusianna N, Gattulli A. A case of skull trephination from late Imperial Rome. J Paleopathol 1996;8:85-8.
16. Charlier P, Catalano P, Digiannantonio S. Une trépanation à Rome à l'époque impériale: un exemple pratique de neurochirurgie antique. J Chirurgie 2006;143:323-4.

SAŽETAK

Uvod: Ovaj kratki rad opisuje izvorni slučaj nedovršene, fatalne trepanacije. Dijagnoza trepanacije postavljena je temeljem pregleda kremiranih ostataka mlade odrasle osobe umrle u II. stoljeću u Rimu. **Klinička slika:** Anatomskom analizom kostiju utvrđena je nedovršena trepanacija, vjerojatno zbog smrti koja je nastupila netom nakon početka zahvata kao posljedica oštećenja krvožilja. Uz to, prikazani nalaz uspoređuje se sa sličnim slučajevima trepanacije iz rimskog razdoblja. **Zaključak:** Iako temeljen na arheološkim ostacima, ovaj slučaj ističe mogućnost dijagnosticiranja trepanacije iz kremiranih i fragmetviranih koštanih ostataka. Sugestivna oštećenja utvrđena na koštanom materijalu od značajnog su interesa za povijest trepanacije u klasičnoj antici. Također, ovakav slučaj može biti od interesa medicinskoj struci tijekom identifikacijskih procesa i antropološkog utvrđivanja uzroka smrti iz koštanih ulomaka.

Ključne riječi: kremacija; forenzička antropologija; povijest medicine; jatrogena smrt; rimsko razdoblje; neurokirurgija; paleopatologija

AUGIAS A., OLIVIER L., PATOU-MATHIS M., CHARLIER P. Anthropologie de la profanation : des traces de pillage ancien sur la nécropole celtique de Bergères, Champagne-Ardenne (Aude). *Antiquité Nationale* (sous presse).

Laurent Olivier
Conservateur en chef du département d'Archéologie celtique et gauloise

Saint-Germain, le 19 juin 2017

Madame Anaïs Augias
ATER Bio-archéologie, Collège de France
Doctorante Paris-Descartes, Paris 5 - Éthique médicale et médico-légale
UMR Trajectoires - Paris 1 Sorbonne
Équipe d'Anthropologie Médicale et Médico-Légale (UVSQ)
23 rue Morère, 75014 Paris

Objet proposition de publication de l'expertise des éléments osseux humains de la nécropole gauloise de Bergères-les-Vertus (Marne)

Chère Anaïs,

J'ai bien reçu le manuscrit de l'étude que vous avez consacrée aux éléments osseux humains de la nécropole gauloise de « Montagnesson » à Bergères-les-Vertus (Marne). Ce travail, qui apporte une contribution importante à l'étude des pratiques de fouille ancienne des sépultures protohistoriques marniennes, sera naturellement publié dans la monographie scientifique du site, qui sera éditée par le Musée d'Archéologie nationale.

Bien à vous, *et avec toute nos félicitations,*

Laurent Olivier

Laurent Olivier
Conservateur en chef du Patrimoine

1 Anthropologie de la profanation : des traces de pillage ancien sur la nécropole 2 celtique de Bergères (Marne)

3

4 AUGIAS A.¹, OLIVIER L.², PATOU-MATHIS M.³, CHARLIER P.¹

5

6 1 Équipe d'Anthropologie Médicale et Médico-Légale, UFR des Sciences de la Santé (UVSQ,
7 AP-HP), 2 avenue de la source de la Bièvre, 78180 Montigny-le-Bretonneux, France.

8

9 2 Département des âges du Fer au Musée des Antiquités nationales de Saint-Germain-en-
10 Laye

11

12 3 CNRS, Unité d'Archéozoologie du Laboratoire de Préhistoire du Muséum et responsable
13 des collections ostéologiques (faune) de l'Institut de Paléontologie Humaine

14

15

16 Introduction

17 En archéologie, le pillage de tombes n'est ni circonscrit dans le temps ou l'espace, ni
18 un fait rare (Brodie et Renfrew 2005, Desforges 2009). En effet, bien que cette pratique soit
19 aujourd'hui facilitée par les détecteurs de métaux et les sites de revente sur internet, la
20 présence potentielle de riche mobilier funéraire fascine depuis toujours, provoquant alors de
21 véritables lésions sur les sites archéologiques *in situ*. L'archéologue va alors devoir introduire
22 ces lésions de pillages à sa lecture du site afin que l'interprétation des vestiges soit la plus
23 optimale. Ces perturbations vont pouvoir être détectées par différentes observations telles
24 que des déplacements significatifs et une déconnexion du volume anatomique et des
25 articulations. Par exemple, les mouvements des vertèbres cervicales et des clavicules,
26 pouvant aller jusqu'au détachement du crâne, peuvent indiquer l'arrachement d'une parure
27 de type collier. C'est tout l'intérêt de l'anthropologie de terrain de savoir différencier de tels
28 déplacements (d'origine anthropique) avec ceux d'origine cadavérique (autonomes) ou liés à
29 l'action d'animaux fouisseurs (petits carnivores, etc.) (Patou-Mathis 2008) sur les dépôts
30 osseux *in situ*.

31 Dans le cadre de la nécropole de Bergères (Marne) datée de la Tène (second âge du
32 fer, environ 460-25 B.P.¹), dont la fouille archéologique a eu lieu en 2013 sous la direction du
33 Pr Laurent OLIVIER, l'étude anthropologique a mis en évidence, dès la phase de terrain,
34 d'importants remaniements osseux *post-mortem* tardifs et des traces d'action anthropique à
35 l'aide d'outils métalliques (Figure 1). Sur un total de 18 fosses à inhumations (ELA01, 03, 04A
36 et B, 05, 06, 09, 10, 12, 13, 14, 15, 18, 19, 20 A et B, 21A et B), 17 sépultures présentent des
37 restes osseux et le nombre minimum d'individus (NMI) décompté est de 21 ; le NMI de
38 chaque sépulture est de 1 à l'exception des sépultures ELA 03, 04A, 06 et 20 qui compte les
39 restes d'au moins deux individus. Parmi ces individus conservés, neuf présentent des lésions

¹ Bonnabel 2012 p. 53

40 compatibles avec des traces de pillage : cinq ont des lésions traumatiques intervenues sur os
41 sec (ELA 01, 18, 20A et 21A et B) ; six des traces d'oxydation cuivreuse (vert-de-gris) (ELA
42 04B, 15, 18, 20A et B et 21A) et une parure conservée (ELA 21A).

43 En laboratoire, l'analyse tracéologique va alors nous donner des indications sur les modes
44 opératoires de recherche puis d'ouverture des sépultures au XIXe siècle, et peut-être même
45 auparavant.

46

47 **Contraintes et description des lésions**

48

49 L'étude anthropologique de la nécropole de Bergères s'est heurtée à des contraintes
50 taphonomiques empêchant une lecture optimale des ossements. La présence de vert-de-gris
51 (oxydation cuivreuse), de mollusques thanatophages et/ou thanatophiles (sépulture ELA
52 20B) et de fréquentes fissurations longitudinales osseuses dues à une imbibition aqueuse
53 chronique², indiquent une humidité importante du sol, de façon prolongée. Celle-ci, ajoutée
54 à une acidité relative de la terre (pH mesuré à 5,5-6, sur pH paper Dominique Dutscher), a eu
55 une incidence sur l'état de conservation des os enfouis (dissolution partielle ou totale de
56 certains secteurs anatomiques, sinon forte altération de groupements osseux) et, par
57 conséquent, sur la compréhension des vestiges et l'interprétation des lésions constatées. De
58 ce fait, certaines pathologies ou lésions osseuses telles que les marqueurs d'activités, les
59 enthésopathies³ et lésions d'arthrose, mais également certaines traces d'action anthropique
60 telles que le décarnisation ou la fragmentation cadavérique peuvent ne pas être distinguées.

61 Toutefois, certains os présentent encore des incisions liées à l'action d'un instrument
62 tranchant ne pouvant résulter que d'actes anthropiques postérieurs aux dépôts primaires :
63 actions survenues sur os secs (ayant perdu leur élasticité par désagrégation complète de la
64 structure collagénique)⁴, forte patine d'ancienneté avec infiltration tellurique de la structure
65 osseuse (confirmée par un examen en loupe binoculaire jusqu'à un grandissement x80).

66 Il est ainsi possible d'observer de telles lésions *post-mortem* tardives entre le frontal et
67 pariétal gauche (d'un diamètre estimé à 2.2cm) de l'individu *in situ* ELA 21B (Figure 1), une
68 lésion sans arrachement (2.2cm de longueur et 0.2cm de largeur) sur le fragment de fémur
69 gauche au niveau du tiers proximal antéro-médial de l'inhumation ELA 01 (Figures 2 et 3), un
70 arrachement osseux (0.9cm de longueur et une hauteur maximale de 0.7) sur la face médiale
71 du tiers moyen diaphysaire de l'humérus droit de l'inhumation ELA 21A (Figures 4 et 5) et un
72 arrachement osseux (1.3cm de longueur, 0.5cm de largeur et 0.5cm d'épaisseur) sur le tiers
73 distal latéral diaphysaire radial droit de l'individu ELA 18 (Figures 6 et 7) où les fractures
74 *post-mortem* présentent également un arrachement osseux partiel des berges (tous ces

² Patou-Mathis p.81

³ « Ossifications métaplasiques des enthèses capsulo-ligamentaires » Billard 2008 p.369

⁴ AUGIAS A., BENMOUSSA N., JACQUELINE S., BOUDEAU J., FEMOLANT J.M., NOGEL JAEGER J., WEIL R., MULLER A.-L., CHARLIER P., « Influence du degré d'humidité sur le mécanisme des fractures en anthropologie médico-légale. A propos d'un cas issu de la Place du Jeu de Paume, Beauvais ». *BMSAP*, (sous presse)

75 individus étant adultes). Bien montrer que même forme, même taille, même aspect, donc a
76 fortiori même objet⁵.

77 Associés à ces lésions, plusieurs dépôts d'oxydation d'un alliage cuivreux (vert-de-
78 gris) teintent la corticale de certains os. Ces derniers sont visibles sur toute la surface des
79 clavicules de l'individu ELA 21A, en rapport avec le port temporaire d'une parure de type
80 torque en alliage cuivreux conservée dans l'inhumation (Figures 1 et 8), sur le tiers distal du
81 radius gauche de l'individu ELA 18 (Figure 9) mais également de l'individu ELA 04B, sur le
82 tiers moyen de l'humérus droit de l'individu ELA 15, sur le côté droit de la mandibule de
83 l'individu ELA 20A et sur les clavicules de l'individu inhumé dans la sépulture ELA 20B. Ce
84 mobilier ornemental n'a pas été retrouvé en cours de fouille ; d'après l'archéologue
85 responsable de l'opération, il pourrait s'être agit de fibules ou de torques. L'une d'entre elles
86 (passée entre les mailles des pilleurs ?) a été mise en évidence dans la structure ELA 21A.

87 Autres indices de présence de mobilier funéraire, deux inhumations contenaient un
88 dépôt animal (intentionnel ou intrusif) représenté par les diaphyses non épiphysées de
89 jeunes moutons/chèvres comprenant un humérus gauche et un radius gauche (ELA 01) et un
90 fémur droit (ELA 14). Ces ossements sont morphologiquement comparables aux os humains
91 (malgré leur plus grande densité corticale et médullaire) puisqu'ils présentent des
92 vermiculations et une dissolution partielle indiquant que les restes se situaient en sub-
93 surface avec des actions d'agents climato-édaphiques. Des dépôts de céramique (ELA 09) et
94 d'esquilles ferreuses sont également présents (sans objet complet associé ou persistant).

95

96 **Résultats et discussion**

97

98 L'association de ces éléments taphonomiques et anthropiques semble confirmer une
99 pratique ancienne d'ouverture des sépultures sur le site de la nécropole de Bergères. En
100 outre, la localisation antérieure sur les ossements des individus inhumés en décubitus
101 dorsal, ces lésions indiquent une provenance zénithale des chocs, c'est-à-dire infligés depuis
102 la surface du sol. Compte tenu de leur morphologie et de leur caractère *post-mortem* tardif,
103 les lésions osseuses apparaissent particulièrement compatibles avec celles survenant au
104 décours d'un sondage et/ou d'un pillage ou profanation de sépulture.

105 La présence ancienne de mobilier est, quant à elle, attestée par la conservation d'une
106 parure (torque) en place autour du cou de l'individu ELA 21A (**Figure 1**) mais également par
107 l'existence de dépôts vert-de-gris sur plusieurs os, indiquant que des parures en alliage
108 cuivreux étaient en place suffisamment longtemps pour avoir laissé une trace pérenne. En
109 effet, cette présence de vert-de-gris indique la mise en place, lors du dépôt funéraire et au
110 cours du processus de décomposition/putréfaction/squelettisation, de bijoux en alliage
111 cuivreux (cuivre, bronze, laiton) au niveau du poignet, du cou et du bras du défunt... qui ont
112 été sortis *a posteriori* du volume sépulcral.

113 La présence de vert-de-gris à la surface d'ossements provenant d'une sépulture sans
114 matériel métallique conservé, de tesson de céramique isolé, d'esquilles de fer et des restes

⁵ LEROI-GOURHAN A. *L'Homme et la matière : évolution et techniques*. Albin Michel, 2012.

115 d'ossements d'animaux associés aux traumatismes *post-mortem* très particuliers par leur
116 morphologie subis par certains ossements tendent à confirmer la pratique de pillage sur le
117 site de la nécropole de Bergères au moyen de « sondages » par le biais d'un instrument
118 (métallique ?) en forme de tige ou de T (largeur de 0.4 et 1,2 cm). Ce pillage s'est effectué
119 suffisamment à distance de l'enfouissement pour permettre une patine des fractures
120 causées par le sondage et/ou la réouverture de la tombe (19^{ème} siècle, peut-être même fin
121 du 18^{ème} siècle) (Schnapp 1998), mais rien ne permet d'exclure une telle pratique dès
122 l'Antiquité (c'est-à-dire quelques mois/années après l'enfouissement, déjà) ; en fait, ce qui
123 est sûr, c'est que ce n'est pas post-mortem immédiat (jours et semaines après le décès et
124 l'enfouissement) : citer chapitre Manuel de paléopathologie sur lésions traumatiques.

125

126 **Conclusion**

127 L'association des observations de terrain sur les restes humains *in situ* et des analyses
128 macroscopiques et microscopiques des lésions anthropiques et des traces taphonomiques
129 ont permis de confirmer et de mieux documenter la pratique et les techniques anciennes
130 d'ouverture de sépultures. Ainsi, par la présence d'une parure en alliage cuivreux, de vert-
131 de-gris et l'observation des lésions traumatiques *post-mortem*, une détection en surface par
132 le biais d'un outil tranchant métallique en forme de T a pu être attesté comme méthode
133 ancienne de pillage sur le site de la nécropole celtique de Bergères. Cette étude confirme
134 également le riche potentiel du mobilier funéraire du site, lequel se composait
135 originellement de parures en alliage cuivreux disposées au niveau du cou, des bras et des
136 jambes... dont seul survit la mémoire sous la forme de traces.

137

138

139

140

Bibliographie

BILLARD M. (2008), « Altérations articulaires », In *Ostéo-archéologie et techniques médico-légales : tendances et perspectives. Pour un Manuel pratique de paléopathologie humaine*, CHARLIER P. (dir), De Boccard, Paris.

BONNABEL L. (2012), « Les pratiques funéraires au fil du temps », In *Archéologie de la mort en France*, Inrap, La Découverte

BRODIE N. et RENFREW C., « Looting and the world's archaeological heritage?: The Inadequate Response », In *Annual Review of Anthropology*, 34, 2005, p.343-361

CHARLIER P. (2008), "Diagnostic des malformations humaines en paléopathologie". In *Ostéo-archéologie et techniques médico-légales : tendances et perspectives. Pour un Manuel pratique de paléopathologie humaine*, CHARLIER P. (dir), De Boccard, Paris.

CHARLIER P., GEORGES P., BOUCHET F. et al (2008), "The microscopic (optical and SEM) examination of putrefaction fluid deposits (PFD). Potential interest in forensic anthropology", *Virchows Arch* 453:377–386

DESFORGES J.D., « Le pillage des sites archéologiques français ». In *Bulletin de la Société Historique et Archéologique du Pays de Lorient*, 38, 2009, p.7-23

PATOU-MATHIS M. (2008), « Les altérations taphonomiques et les pseudo-pathologies », In *Ostéo-archéologie et techniques médico-légales : tendances et perspectives. Pour un Manuel pratique de paléopathologie humaine*, CHARLIER P. (dir), De Boccard, Paris.

SCHNAPP A., *La conquête du passé. Aux origines de l'archéologie*. Le Livre de poche, 1998

Liste des illustrations

Figure 1 Vue zénithale de la partie supérieure de l'individu ELA 21A

Figure 2 Vue macroscopique de la lésion *post-mortem* tardive sur le tiers proximal antéro-médial du fémur gauche (ELA 01)

Figure 3 Vue microscopique (à la loupe binoculaire x80) de la lésion *post-mortem* tardive sur le tiers proximal antéro-médial du fémur gauche (ELA 01)

Figure 4 Vue macroscopique de la lésion *post-mortem* tardive sur le tiers moyen médial de l'humérus droit (ELA 21A)

Figure 5 Vue microscopique (à la loupe binoculaire x80) de la lésion *post-mortem* tardive sur le tiers moyen médial de l'humérus droit (ELA 21A)

Figure 6 Vue macroscopique de la lésion *post-mortem* tardive sur le tiers distal latéral du radius droit (ELA 18)

Figure 7 Vue microscopique (à la loupe binoculaire x80) de la lésion *post-mortem* tardive sur le tiers distal latéral du radius droit (ELA 18)

Figure 8 Vert-de-gris sur clavicule gauche (ELA 21A)

CHAUVEAU A.L., AUGIAS A., FROMENT A., BEURET F., CHARLIER P. Radioscannographic correlation of Harris lines in adults : Forensic and anthropological perspectives. *European Journal of Forensic Sciences* 2015 ; 3(2) : 1-8.



Radio-scannographic correlation of Harris lines in adults: Forensic and anthropological perspectives

Anne-Laure Chauveau¹, Anaïs Augias², Alain Froment³,
Florence Beuret⁴, Philippe Charlier⁵

ABSTRACT

Objective: Harris lines are transverse lines of condensation visible on radiography. They have been used in archeology and anthropology as a specific marker of stress for more than a century. Nevertheless, their link with pathology is debatable. The purpose of this study was to determine if Harris lines detected on radiography were corresponding to a specific anatomic structure on computed tomography (CT) scan. **Materials and Methods:** We studied 99 adult femurs extracted from an anthropological collection of the Museum d'Histoire Naturelle of Paris and compared Harris lines detected on radiographs and their anatomic correlation visible on the CT scan. We determined whether lines were correlated to a specific dense structure on CT or were corresponding to normal trabeculation. **Results:** CT scan study has identified significantly less dense lines than radiographs (89% vs. 80% of bones didn't have any), other lines were corresponding to lines that had the same characteristics as normal bone trabeculation. **Conclusion:** Harris lines are not corresponding in adults, to a unique structure that is different from normal bone. Those results, which can be linked to bone remodeling, may explain why it is so difficult to find a link between those lines and stress.

KEY WORDS: Forensic sciences, forensic anthropology, computed tomography scan, Harris lines, transverse lines, lines of growth arrest, radiography, stress lines

RESUME EN FRANÇAIS

But de l'étude: Les lignes de Harris correspondent à des lignes de condensation transversale visibles à la radiographie standard. Elles sont utilisées depuis plus d'un siècle en anthropologie et en archéologie comme marqueur de stress aspécifique. Cependant, leur caractère pathologique est controversé. Le but de notre étude est de comparer la présence des lignes de Harris détectées à la radiographie standard et leur correspondance anatomique au scanner, afin de rechercher si les lignes visibles correspondaient réellement à une structure unique, différente de la trame osseuse normale. **Méthode:** Nous avons analysé 99 fémurs droits adultes issus d'une collection anthropologique du Muséum d'Histoire Naturelle. **Résultats:** La lecture scannographique a identifié de manière significative moins de lignes denses que la radiographie (89% vs. 80% d'os n'en comportant pas), les autres lignes correspondant à de la trame osseuse d'aspect normal. **Conclusion:** Les lignes de Harris ne correspondent donc pas, chez l'adulte, à une structure unique différente de l'os normal. Ces résultats, peut être liés au remodelage osseux, expliqueraient la difficulté à mettre en évidence leur lien avec un éventuel stress.

MOTS CLÉS: Scences judiciaires, anthropologie légale, scanner, lignes de Harris, lignes de condensation transversale, radiographie, lignes de stress

¹Department of Neuroradiology, CHU Bicêtre, 94270 Le Kremlin-Bicêtre, France, ²Section of Forensic and Medical Anthropology, UVSQ & EA 4569 Paris Descartes, UFR of Health Sciences, 2 avenue de la source de la Bièvre, 78180 Montigny-Le-Bretonneux, France, ³National Museum of Natural History, 75231 PARIS, France, ⁴Legouest Army Hospital, 57077 Metz, France, ⁵Section of Forensic and Medical Anthropology, UVSQ & EA 4569 Paris Descartes, UFR of Health Sciences, 2 avenue de la source de la Bièvre, 78180 Montigny-Le-Bretonneux, France

Address for correspondence: Philippe Charlier, Section of Forensic and Medical Anthropology, UVSQ & EA 4569 Paris Descartes, UFR of Health Sciences, 2 avenue de la source de la Bièvre, 78180 Montigny-Le-Bretonneux, France. E-mail: philippe.charlier@uvsq.fr

Received: September 02, 2015

Accepted: November 01, 2015

Published: December 24, 2015

INTRODUCTION

Harris lines correspond to transverse lines of condensation located on the diaphysis or metaphysis of long bones and developed from the metaphysis during growth.

Known since the late 19th century, their debated relationship with stress has been studied for over a century.

Harris was the first one to deepen the study of their relationship with pathological processes [1,2]. He hypothesized that

transverse lines were the result of a stopped or an abnormally slow growth.

Since his time, authors have speculated on the origins of transverse lines.

Follis and Park [3,4] have demonstrated that Harris lines correspond to a disparity between the cartilage work and the osteoblasts work.

Since their discovery, Harris lines have been associated with many stress factors: Malnutrition and vitamin deficiencies [5-7], disease (diabetis, infection, etc.) [8,9], or psychosocial stress responsible for a small stature [10].

However, their pathological nature is not established:

For other authors, Harris lines could only be the witness of physiological growth that occurs in periods of rapid and slow growth [11].

Maat *et al.* [12] have submitted rabbits to different diets (normocaloric, mildly hypocaloric, periodic starving) and showed that the occurrence of Harris lines was not correlated to the type of diet.

There is a gradual decrease in the detection of Harris lines from adolescence to old age, especially for lines formed in the early childhood [13], presumably due to bone resorption and bone remodeling.

Given the remodeling that alters the bone matrix and leads to the disappearance of a number of these lines with age, it seemed interesting to investigate whether lines usually detected only on radiographs and on a single incidence, really have a unique and specific anatomical feature on bone matrix, or if they could match both dense lines and bone matrix of normal appearance.

Our hypothesis was, therefore, to demonstrate with a computed tomography (CT) scan analysis that lines detected by radiography were not significantly different in their anatomic appearance from the rest of the bone matrix.

The aim of our study was to compare Harris lines detected on radiographs and their anatomical correlation analyzed on CT scan on 99 right femurs of adults from an anthropological collection.

Secondary correlation studies between “real” dense lines with abnormal morphology and anatomical (stature) and biographical (age at death) features were performed to test the value of this lesion as a marker of “stress.”

MATERIALS AND METHODS

Sample

Our sample came from the Olivier collection, dating from the 1950s and stored in the National Museum of Natural History

in Paris, located 57 rue Cuvier in Paris, 5th arrondissement. The collection comes from unclaimed bodies from mortuaries in Paris.

This collection is composed of 104 subjects. We analyzed the right femur of 99 of them (subjects provided by the Museum, the others being considered lost).

The population is composed of 38 women, aged 34-79 (the age of 5 women is unknown), with an average of 56.88 years and 61 men aged 30-80 (the age is unknown for 3 of them), with an average of 53.29 years.

Women measured between 150.5 and 168.5 cm (the exact size is known for only 8 of them, unknown for the 31 others), with an average of 158.61 cm and men measured between 146 and 181 cm (size being unknown for 11 of them), with an average of 161.19 cm.

As the size is not known for all the subjects, we also evaluated the size of all subjects (with known or unknown size) from the measure of their femur on CT scan (Trotter and Gleser table).

The treatment of the body after death had been done seamlessly with partial degreasing at Jussieu University, Paris and in a second time another process by the National Museum of Natural History including reburial in heathland for 1 year.

Radiological Acquisitions

All right femur was radiographed with a view of face and scanned [Figures 1-8]:

We have radiographed femurs on anteroposterior view, using 45 KV, 4 mAs without cal support.

Then they have been all scanned at the University Hospital of Kremlin Bicêtre, in the Neuroradiology department, with a Phillips Mx 8000 CT scan, using slice thickness 1.3 mm,



Figure 1: Harris lines on radiographs corresponding to dense lines on computed tomography scan, radiograph a Harris line visible at the inferior diaphyso-metaphyseal level



Figure 2: Harris lines on radiographs corresponding to dense lines on computed tomography scan, multi-planar reconstruction

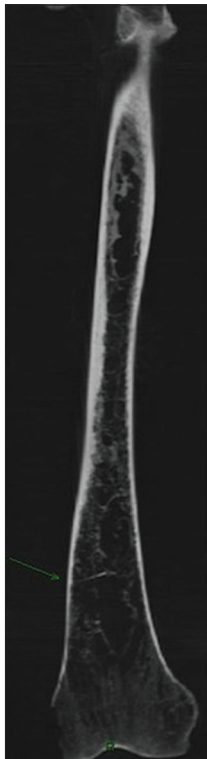


Figure 3: Harris lines on radiographs corresponding to dense lines on computed tomography (CT) scan, coronal view on CT scan a dense line is visible

increment 0.9, FOV 500, Pitch = 0.875, 140 KV, 250 mAS, reconstruction and setting “High” [Table 1].

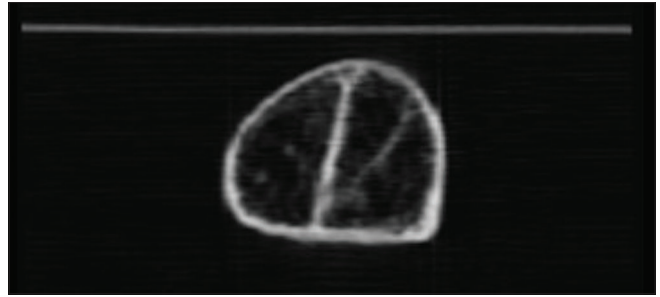


Figure 4: Harris lines on radiographs corresponding to dense lines on computed tomography (CT) scan, axial view on CI scan at the Harris line level a dense line is visible



Figure 5: Harris lines visible on radiograph corresponding to a normally dense line on computed tomography scan, radiograph several dense lines are visible at the inferior metaphyseal level

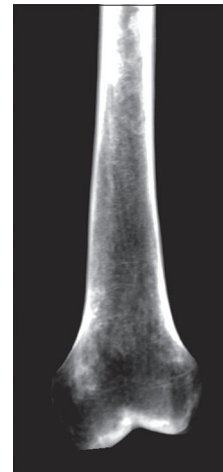


Figure 6: Harris lines visible on radiograph corresponding to a normally dense line on computed tomography scan, multi-planar reconstruction

Femurs have been scanned with the orientation of their diaphysis axis perpendicular to the axis of the helix. This allowed us to keep a good resolution while optimizing the time of acquisition.

Double reading was performed by radiologic resident on PACS viewer and an anthropologist on DIAM viewer.



Figure 7: Harris lines visible on radiograph corresponding to a normally dense line on computed tomography (CT) scan, coronal view on CT scan: Normally dense trabecular lines are visible

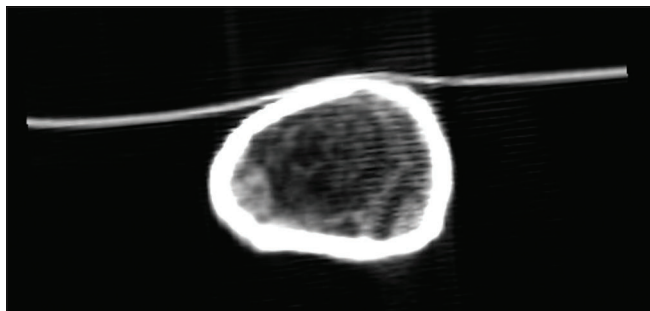


Figure 8: Harris lines visible on radiograph corresponding to a normally dense line on computed tomography (CT) scan, axial view on CT scan at the level of the upper Harris line no dense line visible

Type of Data Collected on all Standard Radiographs [Figures 1 and 5]

- Number of Harris lines
- Centimetric localization of every line calculated from the femur upper extremity.

The Detection Criterion was Visual, Following the Criteria

- Visible to naked eye
- Extended to at least one-third of the width of the diaphysis [14,15], with an angle of 45-135° [16] to the major axis of the femur.

CT scan analysis was performed on PACS viewer.

Type of Data Collected on all CT Scan Acquisitions [Figures 2-8]

After a general analysis of the bone matrix, we have searched, for each line detected on radiographs, and at same centimetric localization, an anatomical correspondence and we ranked qualitatively:

- Aspect of line of bone matrix with density and morphology not different from the rest of the bone matrix
- Line of bone matrix denser than the general matrix of the femur concerned

Table 1: Summary of CT scan parameters

KV	140
mAs	250
Slice thickness	1.3 mm
FOV	500
Increment	0.9
Pitch	0.875
Reconstruction	High

CT: Computed tomography

- Line constructed from normal trabeculations of bone (search by maximum intensity projection [MIP] and multi-planar reconstruction [MPR]).

The evaluation of the density could not be assessed by measuring the Hounsfield density because the lines proved to be too thin to perform a measure (generally sub millimeter thickness).

The variable “line denser than normal bone matrix” was chosen as the definition of Harris line for CT scan in order to be as close as possible to the standard definition that is defined on radiographs. Indeed, on the radiograph, the condensation line must be distinguishable from adjacent bone by a higher density.

The normal line of bone matrix or line built from several trabeculation is considered as not matching the definition of a transverse line of condensation.

At last, CT scan acquisitions were then reread to search for denser lines of matrix bone, which can, therefore, match the criteria of Harris lines, but that were not visible on radiographs [Figure 9].

Statistic Studies

We conducted a simple statistical study on epidemiological data:

- Percentage of men and women
- Age at death, confidence interval (CI) 95%
- Average value of real stature, CI 95%
- Average value of estimated statures, CI 95%
- Comparison of populations between populations of really known stature and of evaluated stature.

We also performed a statistical analysis on the detection of Harris lines:

- Definition of 3 modalities of reading as follows: Reading of radiographs by a radiologic resident, reading of radiographs by an anthropologist and reading of CT scans
- Distribution of the number of Harris lines detected for each bone according to the three modalities. The number of Harris lines is being defined on radiographs and CT scans as described above
- Search of an inter-observer variability for reading of radiographs
- Comparison of the number of Harris lines detected on standards radiographs and on CT scans to determine their real anatomical correlation
- Gender distribution between the two groups (Fisher’s exact test)

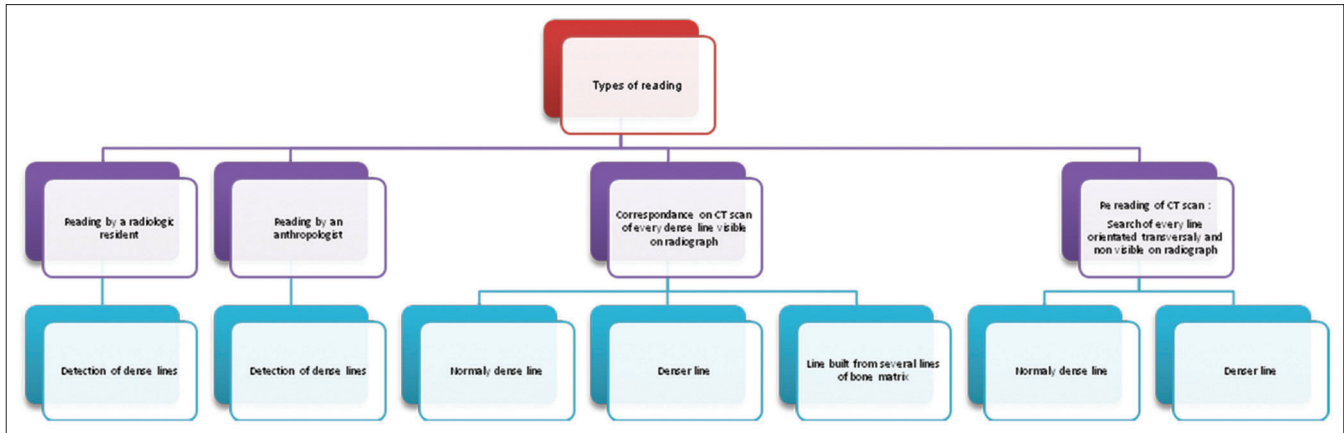


Figure 9: Summary of the different types of reading

- Age distribution between the two groups
- Size distribution between the two groups
- Evaluation of the percentage of bone with scannographic dense lines those are undetected on radiographs.

RESULTS

General Informations

All provided bones could be scanned and analyzed.

The bones were in good condition, with only one fractured bone at the femoral neck.

We did not find any sign of malignancy or sign of previous femoral fracture, except a bone with intramedullary rodding.

Characteristics of the Study Population

We were provided 99 long bones, 38% female, 62% male.

The variable “age” (in years) was given 8% missing.

The population is composed only of adult subjects.

The average age at death was 55, 95% CI (33.5-75.7), minimum 30 and maximum 80.

Variable “height” (in cm) had 48% missing data.

The average height was 163.7 cm, 95% CI (149.57-177.75), minimum 146 cm and maximum 181 cm [Table 2].

We then compared the distribution of statures of individuals between individuals with a known stature and estimated stature, calculated according to the method of Trotter and Gleser for all 99 subjects [Table 3].

We were not able to perform the evaluation of the estimated stature for one of the individuals for whom we had the real

stature. Indeed, the size of the femur was lower than the first data provided by the reference table of Trotter and Gleser that we had.

Estimated stature was significantly higher than the actual stature (Student’s test, $P < 0.0001$).

The population was composed only of adults whose average age was 55 (up to 80), so we can hypothesize that the difference between estimated and real sizes measured at death may be related to the presence of vertebral collapses.

Individuals whose stature was missing had an estimated stature not significantly different from the real stature of other individuals (Student’s *t*-test, $P = 0.15$).

By cons, if we compare the estimated stature of other individuals, their stature was significantly smaller (Student’s *t*-test, $P = 0.0009$).

In conclusion: The population of individuals whose stature was missing were not of the same stature as the others (see last test).

The results were identical when using classes for stature.

Detection of Harris Lines

The total of lines detected was 51 lines for the radiologic resident and 49 for the anthropologist which equals an average of 0.52 lines a bone for the resident and 0.49 for the anthropologist [Table 4].

Approximately 80% of bones showed no line.

Resident and anthropologist analysis were not significantly different (signed rank test, $P = 0.5$).

On CT scan, corresponding to the 51 lines visualized on radiographs on all femora, a total of 19 dense lines was detected on CT scan, 31 others corresponding to the normal matrix and only one was constructed by several matrix lines.

Correlation between Harris Lines Detected in Radiography and Condensation Lines Detected on CT Scan

CT scan reading identifies significantly fewer lines (defined as a line denser than normal matrix) (signed rank test, $P = 0.0002$).

As maximum, CT scan reading identified four lines against 5 or 6 on the radiographs and 89% of the bones did not show any on CT scan against 80% on radiographs [Table 5].

Search for a Significant Difference in the Distribution of Harris lines between Age at Death, Sex, or Size

Reference is reading of CT scan.

There was 89% ($n = 88$) of bones which did not have a line against 11% ($n = 11$) which have at least one.

The gender distribution was not different between the two groups (Fisher exact test, $P = 1$). Indeed, in the group with no line, there was 39% ($n = 34$) of females against 61% of males ($n = 54$) and in the group that has at least one line, the distribution was 36% ($n = 4$) of females against 64% ($n = 7$) of males.

The age distribution was not different between the two groups (Wilcoxon rank test, $P = 0.68$). The average age of death was

Table 2: Age at death and stature of our population of study

	Minimum	Maximum	Average
Age at death	30	80	55
Stature	146	181	163.7

Table 3: Real stature and evaluated stature of the population of study

	Real stature	Estimated stature
Known real stature ($n=56^*$)		
Average	163.5	167.7
CI 95%	149.43-177.65	151.49-183.90
Minimum-maximum	146-181	148.5-182

CI: Confidence interval

Table 4: Repartition in % (n) of the number of lines seen on every type of reading

Number of Harris lines detected per bone	Radiologist analyzing radiography (in % of bones containing this number of lines)	Anthropologist analyzing radiography (in % of bones containing this number of lines)	CT analysis (in % of bones containing this number of lines)
0	78.8	78.8	88.9
1	8.1	8.1	5.1
2	4	4	3
3	5.1	5.1	2
4	2	2	1
5	-	2	-
6	2	-	-

CT: Computed tomography

54.6 years for the 81 bones with no lines and 54.4 years for 10 having at least one line.

Distribution stature was not different between the two groups (Wilcoxon rank test, $P = 0.57$).

The average stature was of 163.8 cm for the 52 bones showing no line and 161.7 cm for the other 5 [Table 6].

Search for Normal or Dense Lines of Matrix that are Not Visible on Radiography

We detected transversally orientated lines which were visible on CT scan but not visible on radiographs on 44 of the 99 femurs. Five of them had lines that were of higher density than bone matrix [Table 7].

DISCUSSION

Harris lines detected by the reference method (radiography with one anteroposterior view) did not show significantly specific anatomical correlation.

Table 5: Repartition of the number of visualized Harris lines

Modalities	Radiologist on radiography	Anthropologist on radiography	CT scan= normal lines	CT scan= dense lines	Scan= built lines from several lines
1	8	8	5	6	1
2	4	4	4	3	0
3	5	5	2	1	0
4	2	2	1	1	0
5	0	2	1	0	0
6	2	0	0	0	0
Total	51 lines	49 lines	31 lines	19 lines	1 line

This figure shows the number of Harris lines seen on radiographs by the resident (1st column) and by the anthropologist (2d column) and their correspondence on CT scan: Normally dense lines (3d column), dense lines (4th column), lines built from several lines of matrix (5th column), CT: Computed tomography

Table 6: Comparison between age, gender, and stature between subjects having dense lines and those who do not have any

	Denser lines (=Harris lines) on CT scan	No Harris line on CT scan
Gender (% of males)	64	61
Age at death (years)	54.4	54.6
Stature	161.7	163.8

CT: Computed tomography

Table 7: Repartition of bones regarding the occurrence of lines visualized on CT scan and/or radiographs

	CT scan: No dense line	CT scan: At least 1 dense line	Total
Radio: No dense line	74	5	79
Radio: At least 1 dense line	10	11	21

CT: Computed tomography

Indeed, our study shows that Harris lines can correspond both to normal lines of bone matrix or to denser transverse lines.

To complete our study, another reading was performed on radiographs after determining the anatomical characteristic on CT scan of each line. No difference in density could be highlighted: CT scan dense lines do not necessarily correspond to denser lines on radiographs.

Similarly, there were some CT scan lines of normal or denser appearance that were not visible on radiographs. We can hypothesize that those lines were either not enough horizontal in the frontal plane or not perpendicularly oriented in the transverse plane to get a radiographic translation.

Detection of “Harris lines” does not lead to the detection of a unique and characteristic anatomical structure.

The centimetric localization of each line, with MIP and MPR reconstruction, had ensured that each line visible on CT corresponded to the line visible on radiographs, thus avoiding giving error of anatomical correlation [Table 6].

Moreover, for Harris actually existing on CT scan, no significant difference could be demonstrated in the distribution in relation to sex, age at death or stature.

Harris lines detected on CT scan do not seem to be correlated with any of the data.

The absence of association to any bone disease (except a possible osteoporosis) avoids a potential confounding factor.

The major remodeling phenomena must have removed many of these lines, as many studies have demonstrated by indicating a decrease in the number of lines with age [14]. Normal transverse bone matrix lines could appear as dense as old Harris lines. Osteoporosis may also play a role: Bone matrix lines could be emphasized by the proximity of void areas.

In total, potential lines of stress linked to a horizontal rearrangement of bone matrix during their formation could, thanks to remodeling and osteoporosis, disappear or be no longer distinguishable from normal bone, as our study seems to demonstrate.

Further anatomopathological and radiological studies performed on adolescents and young adults may be conducted to confirm these hypotheses.

The lack of children cannot afford to extrapolate to a population of immatures. Indeed, we can assume that the absence or the low rate of remodeling related to youth would modify the percentage of lines corresponding anatomically to real dense lines.

The interest of our study also consists in the large number of subjects ($n = 99$), making the study meaningful. Its characteristics do not allow, however, extrapolating the study to every osteological population.

Our study population is composed of bodies collected in the Paris area in the 1950s, thus having had a bone growth in the second half of the 19th century or in the first half of the 20th century. Factors such as chemical or food stress varying from one area to another and from one era to another, further studies should be conducted on populations of other eras, ages, and sizes or different geographical environments and will likely allow generalizing the results of this study.

Overall, the results of our study, namely Harris lines detection cannot lead to the detection of a unique and characteristic anatomical structure, can be correlated with data from the literature and do not seem surprising.

In fact, scientific studies on Harris lines give conflicting results on their possible pathological feature [17-19].

This could be explained by their non-unique anatomical correlation in adults, as we think to demonstrate here.

CONCLUSION

Thanks to our study conducted on 99 right femurs of adults from an anthropological collection and comparing the presence of Harris lines detected on current standard method, namely radiography, and their anatomical correspondence visible on CT scan, we have demonstrated that these transverse lines do not correspond to a unique and characteristic anatomical structure.

Indeed, these lines may correspond either to lines of the normal bone matrix, or dense lines.

A new definition of Harris lines could be proposed not based on radiography, but on CT scan.

We suggest the following definition: “Transverse line, located in the metaphysis or diaphysis of a long bone, oriented perpendicular to the long axis of the bone, with an angle of between 45° and 135°, significantly denser on CT scan than lines of normal bone matrix.”

The absence of a single anatomical feature may question their use as a marker of stress, which would be consistent with the literature data as some former scientific studies do not necessarily identify a link with disease or stress.

Further studies performed on children and young adults may be conducted to confirm these results and to extrapolate to populations of different age, time, or mode of living.

REFERENCES

1. Harris HA. Cessation of growth in long bones in health and disease. *Proc Mayo Clin* 1927;2:228-9.
2. Harris HA. The growth of long bones in childhood with special reference to certain bony striations of the metaphysis and to the role of vitamins. *Arch Intern Med* 1926;38:785-806.
3. Follis RH Jr, Park EA. Some observations on bone growth, with particular respect to zones and transverse lines of increased

- density in the metaphysis. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med* 1952;68:709-24.
4. Park EA. the imprinting of nutritional disturbances on the growing bone. *Pediatrics* 1964;33:Suppl:815-62.
 5. Dreizen S, Spirakis CN, Stone RE. The influence of age and nutritional status on "bone scar" formation in the distal end of the growing radius. *Am J Phys Anthropol* 1964;22:295-305.
 6. Elliot MM, Souther SP, Park EA. Transverse lines in X-ray plates of the long bones of children. *Bull Johns Hopkins Hosp* 1927;41:364-88.
 7. Dean RF, Jones PR. The effects of kwashiorkor on the development of the bones of the hand. *J Trop Pediatr (Lond)* 1956;2:51-68.
 8. Acheson RM. Effects of starvation, septicaemia and chronic illness on the growth cartilage plate and metaphysis of the immature rat. *J Anat* 1959;93:123-30.
 9. Harris HA. *Bone Growth in Health and Disease*. London: Oxford Medical Publications; 1933.
 10. Khadilkar VV, Frazer FL, Skuse DH, Stanhope R. Metaphyseal growth arrest lines in psychosocial short stature. *Arch Dis Child* 1998;79:260-2.
 11. Hermanussen M, Rol de Lama MA, F-Tresguerres JA, Grasedyck L, Burmeister J. Short-term growth: Evidence for chaotic series of mini growth spurts in rat growth. *Physiol Behav* 1998;64:7-13.
 12. Maat GJ. Dating and rating of Harris's lines. *Am J Phys Anthropol* 1984;63:291-9.
 13. Nowak O, Piontek J. The frequency of appearance of transverse (Harris) lines in the tibia in relationship to age at death. *Ann Hum Biol* 2002;29:314-25.
 14. Garn SM, Silverman FN, Hertzog KP, Rohmann CG. Lines and bands of increased density. Their implication to growth and development. *Med Radiogr Photogr* 1968;44:58-89.
 15. Gindhart PS. The frequency of appearance of transverse lines in the tibia in relation to childhood illnesses. *Am J Phys Anthropol* 1969;31:17-22.
 16. Clark GA, Mack M. Reliability assessment of transverse lines. *Hum Biol* 1988;60:283-91.
 17. Hussien F, El Banna R, Sarry El Din A. Non-specific stress indicators in ancient Egyptians from Giza and Bahriyah Oasis. *J Arab Soc Med Res* 2006;1:1.
 18. McHenry HM, Schulz PD. The association between Harris lines and enamel hypoplasia in prehistoric California Indians. *Am J Phys Anthropol* 1976;44:507-11.
 19. Ameen S, Staub L, Ulrich S, Vock P, Ballmer F, Anderson SE. Harris lines of the tibia across centuries: A comparison of two populations, medieval and contemporary in Central Europe. *Skeletal Radiol* 2005;34:279-84.

Source of Support: Nil, Conflict of Interest: None declared.

1.1.2 Naissance d'une pathologie

L'Homme et son environnement (externe et interne) s'influencent mutuellement et sont en perpétuelle évolution, pour notamment répondre aux révolutions humaines⁶¹. Parmi ces éléments évolutifs, les pathologies font partie des préoccupations humaines majeures. Comprendre, contenir et guérir la maladie émergente est une démarche archaïque, voire empirique, que le support archéologique osseux permet d'appréhender. Interpréter ces comportements sanitaires, comprendre les pathologies, les connaissances médicales et les croyances anciennes ainsi que les pratiques magico-religieuses parfois associées puis la gérance sociale et médicale des malades enseignent sur la gestion ancienne de crise voire sur les erreurs associées à ne pas reproduire.

Les pathologies peuvent être caractéristiques d'une époque ou d'un contexte génétique et environnemental. Les ossements archéologiques représentent des supports de réflexion et ainsi l'occasion de comprendre la mécanique humaine, d'établir des méthodes de diagnostics distinguant les atteintes congénitales des acquises afin de proposer des diagnostics différentiels par le biais d'outils biomédicaux. Ces derniers vont alors permettre un diagnostic rétrospectif mettant en évidence d'éventuelles erreurs d'identification et de traitement de la maladie, et démontrant également l'ancienneté de maladies seulement connues par les écrits médicaux.

Le principe de «tracéologie génomique» (notre terme) rend aussi possible l'évaluation du développement d'une maladie commune, rare ou disparue. Le dépôt archéologique humain représente également l'opportunité d'isoler les cellules responsables de maladies éradiquées par la société industrialisée mais toujours persistantes dans certaines sociétés traditionnelles ou inversement, en bref de comprendre la naissance d'une maladie^{62,63}. Comprendre la genèse d'une pathologie, c'est pouvoir la traiter. Les éléments d'un passé sanitaire sont autant de leçons pour le présent, tant dans la gestion d'épidémies que dans la compréhension du mécanisme ou dans le traitement de cas devenus rares.

⁶¹ PINHASI R., STOCK J.T. (dir.), *Human Bioarchaeology of the Transition to Agriculture*. Hoboken, Wiley-Blackwell, 2011.

⁶² RASMUSSEN S., *et al.* Early Divergent Strains of *Yersinia pestis* in Eurasia 5,000 years ago. *Cell*. 2015 ; 163 : 571-582.

⁶³ ROBERTS C. A., LEWIS M. E., MANCHESTER K. (eds), *The Past and Present of Leprosy. Archaeological, historical, palaeopathological and clinical approaches*. Oxford, Archaeopress, British Archaeological Reports, BAR International Series S1054, 2002.

CHARLIER P., AUGIAS A., JACQUELINE S., BENMOUSSA N., HUYNH-CHARLIER I.
Une histoire biologique du cancer. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 2016 ; 44 : 724-729.

have been found from very ancient times [10]. Until now, the most ancient cases from the human lineage come from South African Pleistocene hominids from Swartkrans cave, 1.7 million years old [11] and Malapa from 1.9 million years old [12]. Certainly, these ancient traces are exceptional findings mainly due to the short lifespan of ancient people and to the scarce fossil register from this period. In more modern Prehistoric times, more remains are found, so the probabilities to find these pathologies increase and more cases are described.

In fact, the natural evolution of these diseases, with no radical treatment, should produce obvious and recognizable effects on skeletal remains, like the ones shown in the temporal or femur bones that we present. For this reason, the scarce evidence of tumor disease is so interesting.

The Protohistoric cases we present are notable due to their uncommonness. It is especially interesting the malignant case, because the size of the lesion implies a non-functional lower limb. About the cholesteatoma, the great temporal bone drilling is emphasized. These paleopathology examples are important to modern medicine because the disease is shown at its limit expression.

Disclosure of interest

The authors declare that they have no competing interest.

References

- [1] Fullola JM, Guerrero V, Petit MAP, Calvo M, Malgosa A, Armentano N, et al. La Cova des Pas (Ferrerries, Menorca): un jaciment cabdal en la prehistòria de les Balears. *Unicum Revista de l'Escola Superior de Conservació i Restauració de Béns Culturals de Catalunya* 2008;7:10–20.
- [2] Prats-Muñoz G, Galtés I, Armentano N, Cases S, Fernández PL, Malgosa A. Human soft tissue preservation in the Cova des Pas site (Minorca Bronze Age). *J Archaeol Sci* 2013;40:4701–10.
- [3] Armentano N, Esteve X, Nociarova D, Malgosa A. Taphonomical study of the anthropological remains from Cova des Pas (Minorca). *Quaternary International* 2012;275:112–9.
- [4] Armentano N, Jordana X, Malgosa A. Aproximación paleodemográfica de una población protohistórica de las Baleares. El yacimiento de la Cova des Pas (Ferrerries Menorca). *Revista de Demografía Histórica* 2010;XXVIII(1): 91–108.
- [5] Isidre A, Malgosa A. *Paleopatología. La enfermedad no escrita*. Barcelona: Masson; 2003.
- [6] Armentano N, Malgosa A, Martínez B, Abelló P, Delago MJ, Prats-Muñoz G, et al. Unilateral cholesteatoma in the first millennium BC. *Otol Neurotol* 2014;35:561–4.
- [7] Armentano N, Isidro A, Malgosa A. Paleopatología en la Cova des Pas. Los procesos neoplásicos. *Actas del Congreso Nacional de Paleopatología, in Paleopatología: ciencia multidisciplinar*. Madrid: Sociedad Española de Paleopatología, Universidad Autónoma de Madrid, and Universidad Complutense de Madrid; 2011. p. 499–510.
- [8] Jaffe HL. *Tumors and tumorous conditions of bones and joints*. Philadelphia: Lea and Febiger; 1985.
- [9] Resnick D, Niwayama G. *Diagnosis of bone and joint disorders*. EUA: W.B. Saunders Company; 1981.
- [10] Capasso L. Antiquity of cancer. *Int J Cancer* 2005;113:2–13.
- [11] Odes EJ, Randolph-Quinney PS, Steyn M, Throckmorton Z, Smilg JS, Zipfel B. Earliest hominin cancer: 1.7-million-year-old osteosarcoma from Swartkrans Cave, South Africa. *S Afr J Sci* 2016;112(7/8):1–5.
- [12] Randolph-Quinney PS, Williams SA, Steyn M, Meyer MR, Smilg JS, Churchill SE. Osteogenic tumors in *Australopithecus sediba*: earliest hominin evidence for neoplastic disease. *S Afr J Sci* 2016;112(7/8):1–7.

N. Armentano^{a,b,*}, A. Malgosa^a, A. Isidro^{a,c}

^aUnitat d'antropologia biològica, Dep. Biologia Animal, Biologia Vegetal i Ecologia, Facultat Biociències, Edifici C., Universitat Autònoma de Barcelona, Cerdanyola del Vallès, 08193, Barcelona (Catalonia), Spain

^bAntropolegs Lab, Rossend Arús, 46, baixos 1a, 08014, Barcelona (Catalonia), Spain

^cHospital Universitari Sagrat Cor., 288, Viladomat, 08029 Barcelona (Catalonia), Spain

*Corresponding author at: Unitat d'antropologia biològica, Dep. Biologia Animal, Biologia Vegetal i Ecologia, Facultat Biociències, Edifici C., Universitat Autònoma de Barcelona, Cerdanyola del Vallès 08193, Barcelona (Catalonia), Spain
E-mail address: armentano.nuria@gmail.com (N. Armentano)

Received 2 October 2016
Available online 9 November 2016

<http://dx.doi.org/10.1016/j.gyobfe.2016.10.007>

Une histoire biologique du cancer



A biological history of cancer

Qu'est-ce qui a changé en termes de carcinogénèse entre les périodes anciennes et nous ? Pourquoi cette si grande rareté – théorique – des lésions tumorales malignes ? D'abord, il existe un réel biais de visibilité : la fréquence des cancers dans les populations anciennes est par définition sous-évaluée puisque seuls sont examinés les tissus osseux, c'est-à-dire que seules sont visibles sur squelette les tumeurs soit d'origine osseuse, soit ayant une durée d'évolution telle qu'elles ont fini par atteindre les ossements de voisinage (envahissement local, par exemple ce carcinome épidermoïde de la face sur la momie de Ferdinando Orsini, un aristocrate de la Renaissance italienne [1]) ou à distance (métastases osseuses). L'examen systématique soit macroscopique (autopsie), soit radiologique (scanner ou radiographie standard) de momies ou de segments anatomiques momifiés montre bien que de nombreuses lésions pathologiques (notamment tumorales) sont, dans ce cas, diagnostiquées alors que l'inspection du seul squelette n'aurait pas permis d'en déceler l'existence [2,3]... En outre, le diagnostic rétrospectif sur calcifications biologiques est particulièrement difficile (par exemple, ce tératome médiastinal chez un sujet féminin de l'époque romaine impériale [4]) et parfois même impossible [5] !

Malgré tout, pourquoi si peu de tumeurs ? Il faut bien comprendre que la pathocénose – c'est-à-dire l'interaction de phénomènes pathologiques entre eux et au sein de l'environnement – des populations anciennes s'oppose radicalement à celle des temps modernes. La première période de transition brutale (on a même parlé de révolution sanitaire) est celle du Néolithique : l'homme, antérieurement chasseur-cueilleur, se sédentarise et innove en mettant en place l'agriculture et l'élevage. Le stockage des récoltes au sein de l'habitat, l'accumulation des bêtes domestiquées à proximité des lieux de vie (mais aussi la proximité même entre les excréments animaux et le stockage des denrées ou le couchage des humains) vont avoir tendance à croiser des agents pathogènes. Cette période voit probablement l'accroissement exponentiel des parasitoses, mais aussi des infections bactériennes, à commencer par la tuberculose dans sa forme génomique et clinique la plus récente [6].

Un équilibre lent va ensuite s'établir entre l'homme et son environnement, au fur et à mesure de l'accroissement de la population mondiale, et de l'organisation de l'habitat en communautés dispersées, villages ou villes. Les migrations de populations, tant en contexte de guerre, de commerce, vont s'accompagner d'une migration des agents infectieux et, avec eux, de certains carcinogènes : les caravanes de la route de la Soie ou de la route des Épices n'étaient pas suffisantes, sur le plan démographique, pour transporter la lèpre depuis l'Inde jusqu'au pourtour méditerranéen ; il aura fallu l'armée d'Alexandre le Grand (4^e siècle av. J.-C.) et son pool de soldats et d'accompagnants pour permettre à *Mycobacterium leprae* de franchir ces milliers de

kilomètres... puis d'entrer en compétition avec les souches déjà présentes de *Mycobacterium tuberculosis* par un phénomène d'immunité croisée [7].

Une seconde transition va survenir à la fin du 18^e siècle et durer jusqu'au milieu du 20^e siècle, à la suite de nouvelles innovations techniques : vaccination sous l'impulsion de Jenner, pasteurisation, usage de conservateurs alimentaires, réfrigération/congélation/surgélation, diffusion massive de la théorie hygiéniste et de l'antisepsie, etc. Auparavant, un équilibre s'était établi entre l'homme et son environnement, sous la forme d'un parasitisme massif. L'assainissement de l'organisme humain a été suivie d'une apparition et/ou exacerbation de maladies auto-immunes ou inflammatoires : psoriasis, maladies cryptogénétiques intestinales, thyroïdites, rhumatismes inflammatoires, sclérose en plaque, eczéma/urticaire, etc.

Ce tableau étant dressé, quelle est la place des agents carcinogènes ? Ils sont innombrables dans les populations anciennes, mais n'ont pas forcément le temps d'agir compte tenu de l'espérance de vie relativement réduite et/ou de l'existence d'autres processus pathologiques. La cause de décès principale des populations anciennes n'est pas cardio-vasculaire ni tumorale, mais infectieuse. En l'absence d'antibiothérapies efficaces (malgré quelques exceptions comme l'usage de tétracyclines en période romaine [8]), toute infection, même bénigne, peut aboutir à un décès à très court terme sur ces populations fragilisées par ce poly-parasitisme chronique. Les carcinogènes ne sont certes pas les produits industriels, le tabagisme ou les irradiations artificielles actuellement si présents. Mais on compte tout de même : parasitisme chronique induisant des phénomènes d'inflammation chronique, métaux lourds et apparentés (plomb, mercure, arsenic, manganèse) présents dans les bijoux (avec un phénomène de perspiration : passage trans-cutané d'éléments polluants lors de la transpiration [9]) ou dans la peinture de contenants céramiques ; artisanat avec contact d'espèces botaniques aromatiques (acacia, cèdre, etc.) ; exposition prolongée à des fumées et poussières ; fort taux d'endogamie ; obésité et/ou malnutrition ; etc. L'hypothèse séduisante soulevée par Montesquieu d'une chute de l'Empire romain consécutive à un saturnisme global lié à l'usage de canalisations en plomb, ne tient plus : une croûte calcaire se dépose en effet très rapidement dans ces canalisations, limitant d'autant le contact entre l'eau et le plomb ; si l'eau n'est pas plombifère, elle est en revanche particulièrement riche en agents infectieux, d'où la nécessité de la purifier (par un filtrage à travers un linge fin, ou par ajout de vinaigre pour inactiver les éventuels agents pathogènes) [10].

De façon anecdotique, d'autres facteurs carcinogènes ont pu être mis en évidence ; le plus « spectaculaire » est peut-être la mutation K-ras dont l'apparition aurait été facilitée par une alimentation riche en viande fumée et en gibier chez Ferrante I^{er} d'Aragon, un sujet appartenant à l'élite financière de la Renaissance italienne [11].

La concurrence est rude dans les causes de décès : au sein des milliers de momies égyptiennes examinées par autopsie et/ou scanner (et pour lesquelles une éviscération complète n'avait pas été réalisée in extenso pour des raisons vraisemblablement financières : embaumement de deuxième ou troisième classe), très peu de carcinomes de l'arbre urinaire ont été mis en évidence, alors qu'abondent les parasitoses de type bilharziose. Peut-être parce que les sujets ont été fauchés par la mort avant que d'avoir eu le temps de développer un cancer macroscopique ?

Notre vision de l'histoire biologique du cancer est donc tronquée, biaisée. Seul le développement d'études systématiques des restes momifiés, doublées d'examen en biologie moléculaire (recherche de mutations pro-carcinogènes) permettront de combler les lacunes.

Déclaration de liens d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

- [1] Fornaciari G, Bruno J, Corcione N, Tornaboni D, Castagna M. Un cas de tumeur maligne primitive de la région naso-orbitaire dans une momie de la basilique de S. Domenico Maggiore à Naples (XVI^e siècle). In: Capasso L, editor. *Advances in paleopathology: proceedings of the VII European meeting of the paleopathology association*. Solfanelli; 1989. p. 65–9.
- [2] Prates C, Sousa C, Oliveira S, Ikram S. Prostate metastatic bone cancer in an Egyptian Ptolemaic mummy, a proposed radiological diagnosis. *IJPP* 2011;1(2):98–103.
- [3] Fornaciari G, Giuffra V. Soft tissue tumors in paleopathology: a review. *Pathobiology* 2012;79:257–67.
- [4] Charlier P, Huynh-Charlier I, Brun L, Devisme L, Catalano P. Un tératome mature médiastinal vieux de 1800 ans. *Ann Pathol* 2009;29:67–9.
- [5] Komar D, Buikstra JE. Differential diagnosis of a prehistoric biological object from the Koster (Illinois) site. *Int J Osteoarchaeol* 2003;13:157–64.
- [6] Gutierrez MC, Brisse S, Brosch R, et al. Ancient origin and gene mosaicism of the progenitor of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS Pathogens* 2005;1(1):e5.
- [7] Donoghue HD, Marcsik A, Matheson C. Co-infection of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium leprae* in human archaeological samples: a possible explanation for the historical decline of leprosy. *Proc R Soc B* 2005;272:389–94.
- [8] Bassett EJ, Keith MS, Armelagos GJ, Martin DL. Tetracycline-labeled human bone from ancient Sudanese Nubia (A.D. 350). *Science* 1980;209:1532–4.
- [9] Lanzirotti A, Bianucci R, LeGeros R, et al. Assessing heavy metal exposure in Renaissance Europe using synchrotron microbeam techniques. *J Archaeol Sci* 2014;52:204–17.
- [10] Charlier P. Médecin des morts. *Récits de paléopathologie*. Paris: Fayard; 2006.
- [11] Marchetti A, Pellegrini S, Bevilacqua G, Fornaciari G. K-ras mutation in the tumor of Ferrante I of Aragon, King of Naples. *Lancet* 1996;347:1272.

P. Charlier^{a,b,*}, A. Augias^a, S. Jacqueline^a, N. Benmoussa^a,
I. Huynh-Charlier^{a,c}

^aÉquipe d'anthropologie médicale et médico-légale (UVSQ & EA 4569 Paris-Descartes), 2, avenue de la Source-de-la-Bièvre, 78180 Montigny-Le-Bretonneux, France

^bCASH & IPES, avenue de la République, 92000 Nanterre, France

^cService de radiologie générale, CHU Pitié-Salpêtrière, AP-HP, boulevard de l'Hôpital, 75013 Paris, France

*Auteur correspondant.

Adresse e-mail : philippe.charlier@uvsq.fr (P. Charlier).

Accepté le 11 octobre 2016

Disponible sur Internet le 9 novembre 2016

<http://dx.doi.org/10.1016/j.gyobfe.2016.10.008>

Bowel occlusion in an infertile woman with documented deep endometriosis of the sigmoid colon: Why was it not unexpected?



Occlusion du côlon sigmoïde chez une patiente infertile avec endométriose profonde connue : pourquoi n'était-elle pas inattendue ?

ARTICLE INFO

Keywords:

Deep endometriosis
Colorectal endometriosis
Bowel occlusion
Infertility

Controversy exists about the management of young women with deep infiltrating colorectal endometriosis and pregnancy

JACQUELINE S., BENMOUSSA N., AUGIAS A., RAINSARD P., MULLER A.L., CHARLIER P., NOGEL JAEGER J. Un lépreux pagétique (Maladrerie Saint-Lazare, Beauvais). *6^e Colloque International de Pathographie 2015* : 41-53.

JACQUELINE S.⁽¹⁾, BENMOUSSA N.⁽²⁾, AUGIAS A.⁽¹⁾,
RAINSARD P.⁽¹⁾, MULLER A.L.⁽³⁾, NOGEL JAEGER J.⁽⁴⁾
BOUDEAU J.⁽⁵⁾, FEMOLANT J.M.⁽⁶⁾, CHARLIER P.⁽¹⁾

UN LÉPREUX PAGÉTIQUE (MALADRERIE SAINT-LAZARE, BEAUVAIS)

A PATIENT WITH LEPROSIS AND PAGET DISEASE (MALADRERIE SAINT-LAZARE, BEAUVAIS)

Résumé

Le terme « léontiasis » est connu depuis l'Antiquité et était employé pour décrire les déformations grotesques de la face et du crâne chez les lépreux. Le leontiasis ossea est une hypertrophie progressive et diffuse des os de la face et du crâne donnant également un aspect léonin au malade mais qui n'a rien à voir avec celui rencontré dans la lèpre. En effet, cette dernière entraîne un gonflement des tissus mous et de la peau sans atteinte osseuse sous jacente, contrairement à l'atteinte de la face par le leontiasis ossea. Le leontiasis ossea n'est pas une maladie en soi mais un symptôme d'un ensemble de maladie comme la maladie de Paget, la dysplasie osseuse ou encore l'ostéopétrose.

Des fouilles effectuées à la maladrerie de Saint-Lazare à Beauvais (France) ont permis de retrouver un individu lépreux ayant les caractéristiques d'un *leontiasis ossea*. Nous avons effectué une étude descriptive macroscopique et scannographique sur l'ensemble de ce squelette. Cette étude paléopathologique nous a permis de proposer le diagnostic de maladie de Paget osseuse. En effet l'atteinte polyostotique ainsi que le remodelage osseux excessif entraînant un épaississement diffus des os du crâne, du squelette axial (vertèbres, côtes...) et des os longs sont des arguments majeurs en faveur de ce diagnostic. Cette étude nous confirme l'importance d'une collaboration pluridisciplinaire scientifique dans l'analyse des restes osseux humains.

(1) Section d'anthropologie médicale et médico-légale, UFR des sciences de la santé (UVSQ), 2, avenue de la Source-de-la-Bièvre, 78180 Montigny-le-Bretonneux, France

(2) Service d'Oto-Rhino-Laryngologie — Chirurgie de la face et du cou. CHU de Rouen, Rouen, France.

(3) Service de Radiologie, Hopital Sainte Camille, 2 rue des Pères Camiliens, 94360 Bry sur Marne, France

(4) Department of Physics, Chemistry and Pharmacy, University of Southern Denmark, Odense

(5) Archéologue chargée d'études, Service archéologique, Ville de Beauvais, 1 rue Desgroux, 60000 Beauvais, France.

(6) Directeur du Service archéologique, Ville de Beauvais, 1 rue Desgroux, 60000 Beauvais, France.

Abstract

The term “leontiasis” has been known since antiquity and was used to describe the grotesque deformations of the face and skull in lepers. Leontiasis ossea is a progressive and diffuse hypertrophy of the facial and skull bones, which also give a leonine appearance to the patient but has nothing to do with the one encountered in leprosy. Indeed, leprosy causes a swelling of the soft tissues and the skin without underlying involving bone, contrary to the damages of the face by leontiasis ossea. Leontiasis ossea is not a disease in itself, but a symptom of a collection of disease as Paget’s disease, bone dysplasia or osteopetrosis.

Excavations at the Saint-Lazare hospital in Beauvais (France) also discovered a leprosy individual with the characteristics of leontiasis ossea. We have conducted a macroscopic and scannographic descriptive study on the whole skeleton. This paleopathological study allowed us to propose the diagnosis of bone Paget’s disease. In fact polyostotic involvement and excessive bone remodeling causing diffuse thickening of the skull bones, the axial skeleton (vertebrae, ribs...) and long bones are major arguments in favor of this diagnosis. This study confirms the importance of a multidisciplinary scientific collaboration in the analysis of human bone remains.

Introduction

La maladie de Paget osseuse a été décrite pour la première fois par Sir James Paget sous le vocable d’« *osteitis deformans* » en 1877 (1). C’est une maladie chronique à développement progressif, pouvant toucher un os (monostotique) ou plusieurs os (polyostotique) du squelette. Elle évolue en différents stades et étapes en fonction de l’activité osseuse. La première caractéristique est une phase d’activité ostéoclastique intense avec une résorption de l’os normal aboutissant à une formation extensive et désorganisée d’os nouveau donnant un tissu osseux structurellement anormal avec un aspect « mosaïque » de l’os lamellaire avec une augmentation de sa vascularisation et un aspect fibreux à la moelle osseuse conduisant à l’élargissement des os comme par exemple le maxillaire et la mandibule (2). Cette maladie peut avoir d’importantes conséquences : atteintes osseuses, neuromusculaires ou encore auditives (3). L’objectif de cette étude est d’étudier un squelette issu d’une fouille archéologique effectuée à la léproserie de Saint-Lazare à Beauvais (France) qui présente les caractéristiques d’une maladie de Paget osseuse.

Contexte archéologique

La maladrerie de Saint-Lazare a été construite en 1131 et utilisée comme colonie de lépreux jusqu’au XVIII^e siècle. Au Moyen Age, par peur de la contagion, les lépreux ont été regroupés en colonies de lépreux ou “maladreries”. Ils recevaient de l’alimentation, des abris, des vêtements, et des soins pouvaient même être délivrés. Les fouilles effectuées sur ce site ont révélé une tombe avec les restes de plusieurs squelettes, un minimum de 19 personnes de tous sexes et âges. La fouille de l’étage supérieur contient les restes du squelette appartenant à un homme d’au moins 20 ans qui a été l’objet de notre étude (Fig. 1).



Fig. 1 : *Vue d'ensemble*

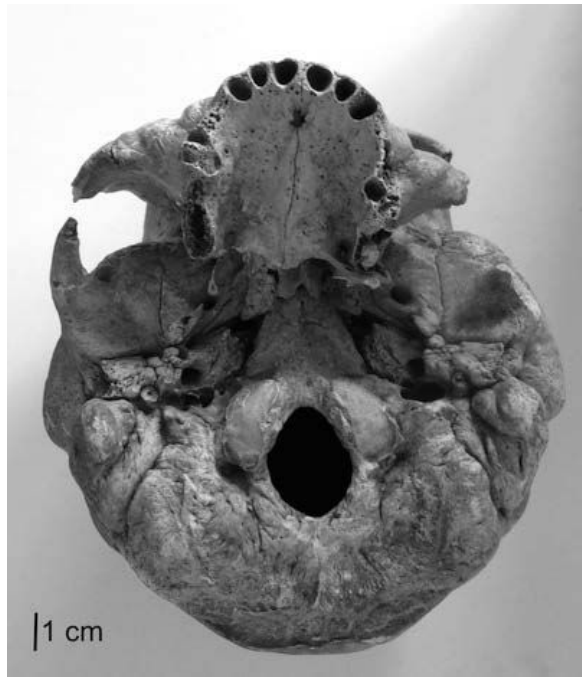


Fig. 2 : *Base du crâne*



Fig. 3 : *Vue de face*



Fig. 4 : Profil droit



Fig. 5 : Profil gauche

Matériel et méthodes

Etude macroscopique

Tous les os décrits dans ce rapport présentent une « érosion » taphonomique en raison de l'environnement dans la tombe. L'ensemble restant des os du squelette a un aspect pathologique et pagétique. Leur surface est rugueuse et irrégulièrement piquetée et ils ont tous une coloration crayeuse. La méthode morphologique et la méthode métrique (4) ont permis de confirmer le caractère masculin de cet individu. Etant donné la mesure du fémur gauche (44 cm de longueur maximale), une taille de 165 cm +/- 3,27 cm a pu être estimée (5). Toutefois, l'épaississement des os entraîne une imprécision qu'il est impossible de corriger. La méthode morphologique estime un âge au décès entre 20 et 39 ans (6). Ces estimations doivent être interprétées avec prudence compte-tenu du retentissement majeur sur les analyses osseuses.

Le crâne (avec le maxillaire) et la mandibule pèsent respectivement 952g et 196 g (pour des poids normaux respectifs de 560 g et 90 g (7)). L'augmentation du poids du crâne a donc entraîné une usure plus importante des articulations de la face, l'arthrose majeure occipitale en est le témoin (Fig. 2). Les diamètres du foramen magnum sont diminués. Le diamètre sagittal est 25mm et le diamètre transverse est 20mm (normalement 36mm et 31mm) (8); cette sténose du foramen magnum conséquence de l'hyperostose a pu entraîner du vivant de l'individu une compression médullaire donnant des troubles neurologiques (paraplégie...) (9).

Les mesures du crâne sont 16,2 cm de largeur, 13 cm de hauteur et 19 cm de longueur (Fig. 3 à 5). L'augmentation significative de la largeur bi-pariétal, siège d'une prolifération d'os périosté, confère à ce crâne un aspect trifolié (Fig. 3). À noter la présence d'une lésion de 2,5 cm au niveau de l'os pariétal gauche. L'aspect cicatriciel et la forme de cette lésion nous confortent dans l'idée d'un traumatisme ancien par objet contondant sous la forme d'une avulsion partielle de l'os de la voûte crânienne (Fig. 6).



Fig. 6 : *Fracture ancienne pariétale gauche*



Fig. 7 : *Mandibule, vue supérieure*

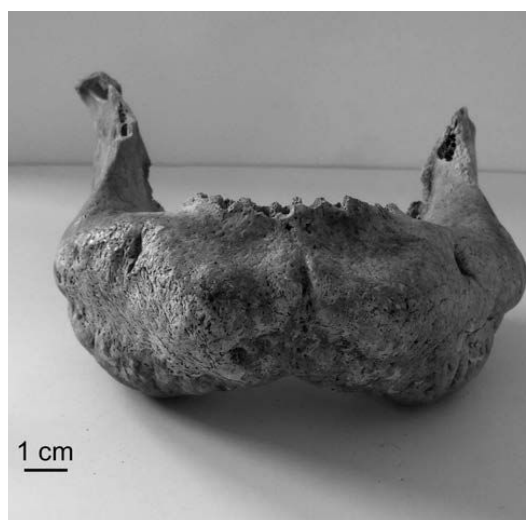


Fig. 8 : *Mandibule, vue antérieure*

Il existe une augmentation importante de l'épaisseur des mâchoires. La mandibule mesure 12,5 cm de largeur, 13 cm de hauteur et 4 cm d'épaisseur maximale. La prolifération osseuse diffuse de la mandibule a entraîné l'occlusion des foramens mentonniers probablement responsable d'une hypoesthésie labio-mentonnaire (Fig. 7 et 8). Les dents 45 à 35 ainsi que de 13 à 23 ont toutes été perdues en post-mortem. Par ailleurs il n'existe pas d'alvéoles dentaires des dents molaires dans les quatre secteurs.

L'ensemble des vertèbres étudiées présente des signes typiques de l'atteinte pagétique : les plateaux vertébraux sont irréguliers et les arcs vertébraux sont épaissis. On retrouve également des nodules de Schmorl au niveau des faces inférieures des corps vertébraux de L7, L8, L9 et L10 ainsi que sur les faces supérieures

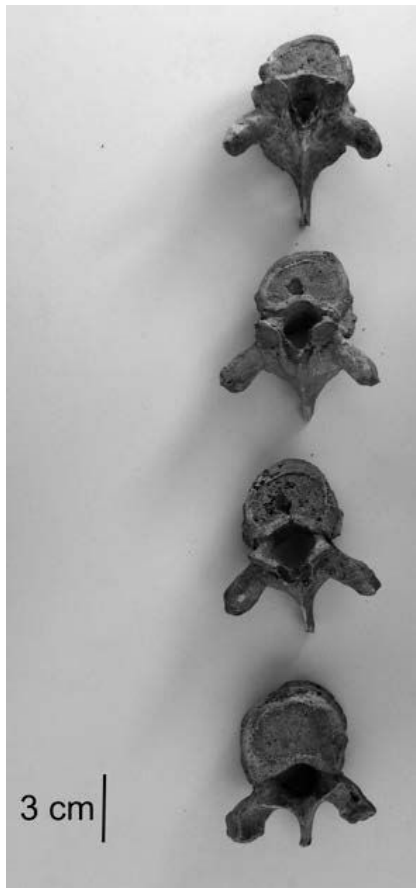


Fig. 9 : *Vertèbres T7 à T10
vue supérieure. Nodule de Schmorl*

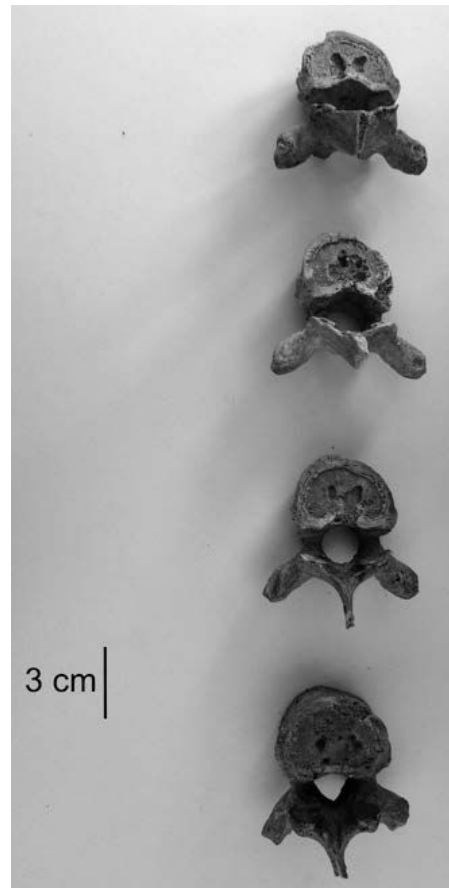


Fig. 10 : *Vertèbres T7 à T10
vue inférieure. Nodule de Schmorl*



Fig. 11 : *Côte droite*



Fig. 12 : *Côte gauche*



Fig. 13 : *Humérus droit.*
Dédifférenciation cortico
médullaire



Fig. 14 : *Radius gauche*
épaissi dans sa globalité.
Augmentation de courbure
latérale au niveau du tiers
inférieur de la diaphyse.

des corps vertébraux de L8 et L9 (Fig. 9 et 10). Ces nodules sont présents lorsqu'un individu subi des contraintes mécaniques importantes quotidiennes comme le port de charges lourdes, et dans ce cas on peut supposer que le poids important de l'extrémité céphalique a pu également contribuer à cette dégénérescence vertébrale. Ces nodules de Schmorl ne sont pas en rapport avec le processus pagétique. De nombreuses cotes présentent une dédifférenciation corticomédullaire (Fig. 11 et 12). Les épaisseurs des clavicules sont augmentées.

Les deux humérus ont un aspect pagétique. La section de l'humérus droit au milieu de la diaphyse a permis de mettre en évidence une dédifférenciation cortico médullaire, classiquement retrouvé dans la maladie de Paget (1). Mais on ne peut dire dans quel sens a progressé la maladie (Fig. 13). Les deux tiers supérieurs du cubitus droit sont épaissis et il y a une accentuation de la courbure latérale dans ces deux tiers supérieurs. Les radius droit et gauche sont épaissis dans leur globalité (Fig. 14). Au niveau du radius droit, la section proximale présente une dédifférenciation cortico-médullaire complète et la section en distale présente un début de dédifférenciation cortico-médullaire. On peut donc en déduire une progression de l'atteinte pagétique de l'extrémité proximale vers distale (Fig. 15). Quant au radius gauche, il présente une augmentation de courbure latérale au niveau du tiers inférieure de la diaphyse, ce qui devait entraîner des difficultés dans les mouvement de pronosupination, la section au niveau du tiers inférieure de la diaphyse permet de mettre en évidence un début de dédifférenciation dans la partie proximale et un os sain en partie distale, le sens de progression semble donc être proximale vers distale

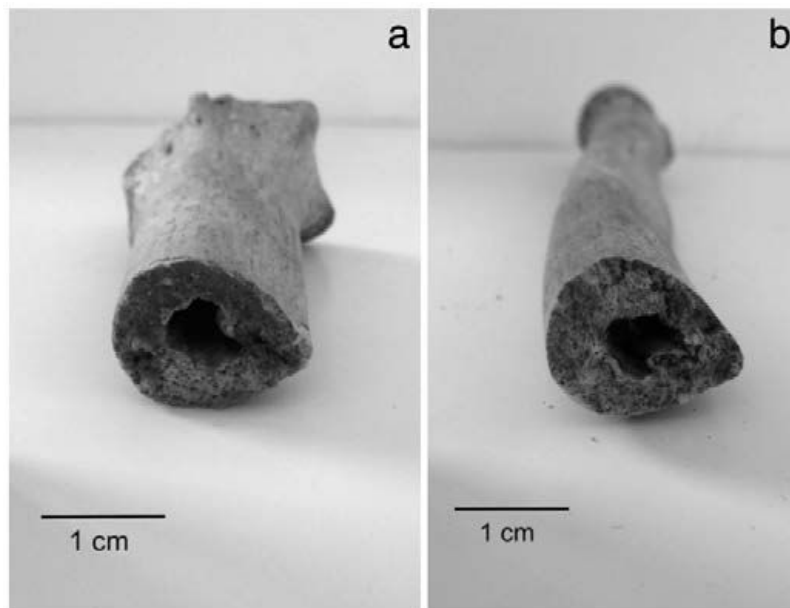


Fig. 15 : *Radius droit distal (a) et proximal en bas (b).*



Fig. 16 : *Tibia droit : épaissement diffus et courbure vers l'intérieur.*

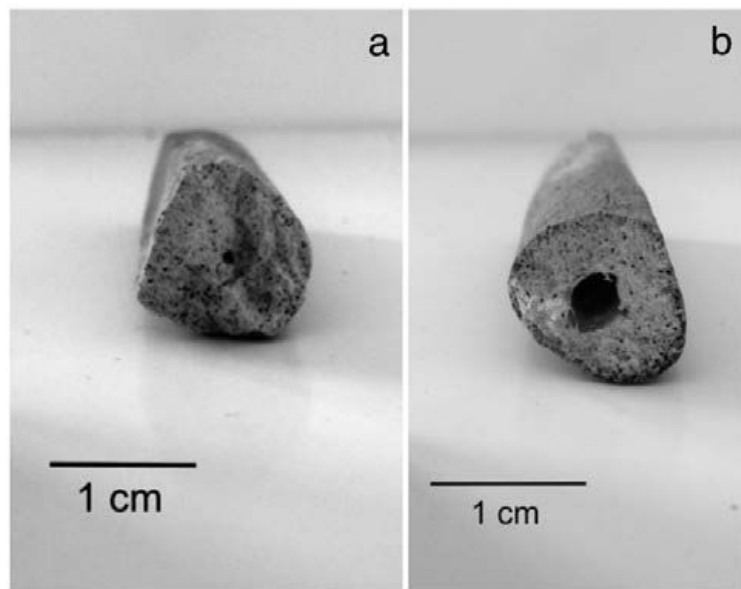


Fig. 17 : *Fibula gauche, processus pagétique avec progression distale (a) vers proximale (b).*

comme pour le radius droit. L'atteinte pagétique s'est donc développée de manière symétrique de chaque côté de l'individu.

Les fémurs droit et gauche pèsent respectivement 579g et 533g ce qui semble important par rapport à des fémurs sains (10). La courbure sagittale des deux fémurs semble légèrement augmentée tout comme leur courbure latérale. Les tibias droit et gauche présentent un épaissement diffus et une courbure vers l'intérieur (Fig. 16).

Le fragment de diaphyse de la fibula droite présente à son extrémité proximale une destruction de la corticale de l'os, quant à son extrémité distale elle présente un début d'épaississement de la corticale, on a donc deux stades différents du processus pagétique avec un sens de progression de l'extrémité distale vers proximale. Il y a également un léger effacement de la crête interosseuse de la fibula droite. Le fragment de fibula gauche est épaissi par rapport au contra latéral mais le sens de la progression pagétique est la même (Fig. 17).

Examens complémentaires



Fig. 18 : Scanner du crâne. *Epaississement des temporaux et de la base du crâne.*

Une acquisition hélicoïdale sur un scanner 64 barrettes OPTIMA de General Electric a été réalisé sur l'ensemble du squelette à l'Hôpital Sainte Camille (Bry-sur-Marne). L'épaisseur de coupes est à 0.625. 100 kV. mA adaptées par le logiciel. La reconstruction est en filtre osseux. La lecture est effectuée sur une console dédiée General électrique. L'analyse est faite en MPR avec coupes axiales, coronales et sagittales.

Au niveau du crâne il a permis de mettre en évidence un épaississement osseux lié à une hypertrophie corticale. Elle concerne

les deux os temporaux, la base du crâne, la partie antérieure des os pariétaux, la mandibule, le maxillaire et épargne la voûte crânienne (Fig. 18). Il existe un rétrécissement de la lumière médullaire et un aspect floconneux intra médullaire et de la jonction cortico-médullaire notamment visible dans la mandibule. Le même aspect a été observé sur les clavicules, les humérus et les os des avant bras disponibles avec un aspect floconneux visualisé sur les régions métaphyso-épiphysaires (Fig. 19). L'aspect est identique pour les membres inférieurs, avec une hypertrophie corticale, un aspect floconneux des métaphyses (Fig. 20). Il n'y a pas de déformation en lame de sabre des tibias ou en crosse des fémurs. En ce qui concerne les vertèbres, il y a une hypertrophie des corticales prédominante sur l'arc postérieur avec une atteinte du corps vertébral moins marqué et prédominante au centre de la vertèbre. Aucun aspect en cadre ou en vertèbre ivoire n'a été observé. Le bassin présente le même aspect pagétique que précédemment décrit. L'hypertrophie globale de l'os est de même difficile à mettre en évidence. L'examen scannographique a permis de mettre en évidence le sens de progression du processus pathologique lorsque celui-



Fig. 19 : *Aspect floconneux des clavicules et des omoplates.*



Fig. 20 : *Aspect floconneux des fémurs.*

ci n'était pas identifiable macroscopiquement. Il a confirmé l'avulsion dentaire complète post mortem, et l'absence de germe pour les dents 16, 17, 18, 26, 27, 28. L'ensemble est compatible avec une maladie de Paget évoluée. Il n'y a pas de signe de transformation sarcomateuse. En ce qui concerne la lèpre il n'a pas été vu de périostite ou d'arthrite ; mais les extrémités des membres sont manquantes.

Discussion

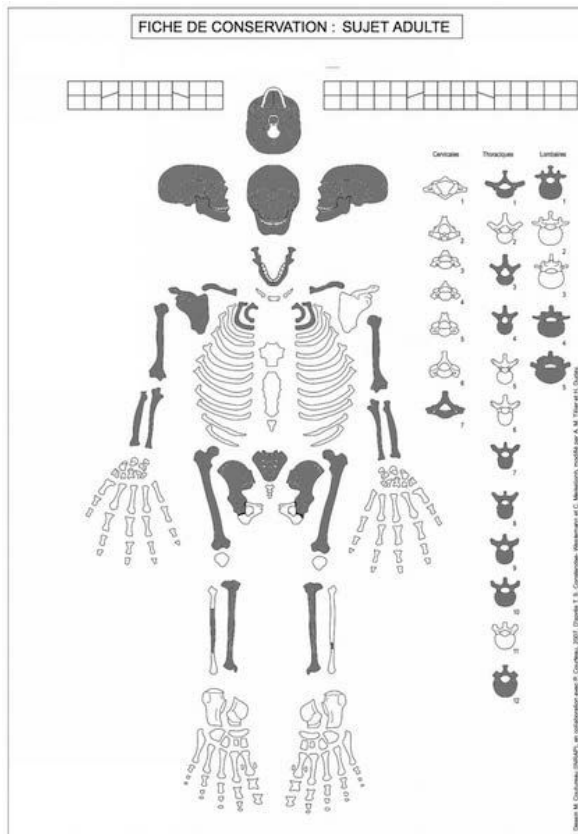


Fig. 21 : Régions identifiées avec certitude et atteintes par la maladie de Paget.

qu'il s'agit d'une maladie à prédominance masculine avec un ratio H/F qui varie de 1,1 à 1,6 (10). Le calcul de la stature par l'équation de Trotter et Glaser à partir d'un fémur pathologique a pu entraîner aussi une imprécision qu'il est impossible de corriger. La présence de lésions à différents stades peut sembler contradictoire avec l'évolution de cette maladie mais elles peuvent coexister sur une même individu et sur un même os comme là décrit Malghem (11).

L'âge au décès a pu difficilement être évalué ; en effet les marqueurs habituels sont inutilisables du fait de l'atteinte dentaire et osseuse mais sachant que la maladie est exceptionnelle chez les personnes de moins de 40 ans et que l'atteinte des os longs se répand de proche en proche et à raison de 1 cm par an (11). Il est permis de penser qu'il a fallu 20 à 30 ans pour que la maladie s'étende à l'ensemble de l'humérus droit, et que donc cette personne pouvait avoir entre 40 et 50 ans.

Après avoir reporté tous les os concernés par ces lésions sur une fiche de conservation (Fig. 21), nous avons pu constater que l'atteinte était diffuse, bilatérale, sans prédominance au niveau d'une zone en particulier, mais l'absence d'une partie des os, notamment des plus fragiles comme ceux du carpe et du métacarpe, ne nous ont pas permis d'étudier l'ensemble osseux de cette individu. L'absence de ces os peut être liée à leur fragilité naturelle par rapport aux autres os pathologiques rendus plus résistant du fait du processus pagétique.

L'atteinte de l'os coxal n'a pas entravé la détermination du sexe, masculin, chez cet individu ; d'autre part, la robustesse notable de certaines pièces (fémur, humérus...) conforte cette diagnose sexuelle. On sait également

L'absence de visualisation de germes dentaires dans le secteur molaire ne nous ont pas permis d'exclure le diagnostic d'agénésie dentaire, mais cette cause est rarement retrouvé dans les 4 secteurs. L'élargissement progressif du maxillaire et de la mandibule lors de ce processus pathologique osseux a pu être également responsable de ces pertes molaires. En effet les crêtes alvéolaires s'élargissent et le palais osseux s'aplatissant, les dents ont moins d'attachement et peuvent devenir mobiles et migrer, produisant certains espacement (3). D'autre part la diminution de taille des alvéoles dentaires par l'hyperostose a pu être aussi à l'origine de ces pertes dentaire ante mortem (1)

Ce squelette montre une atteinte polyostotique. Habituellement les sens de progression des fronts pagétiques sont opposés et asymétriques mais, dans le cas présent, les atteintes sont du même côté et symétriques, ce qui n'est pas le plus couramment rencontré (1). Nous n'avons pas trouvé d'explication à ce phénomène.

Ce cas nous permet de visualiser les différents stades d'évolution d'un même processus. Les lésions observées ne correspondent pas toutes au même stade, elles peuvent donc survenir à différents âges de la vie, elles sont asynchrones (11).

Conclusion

La maladie de Paget est une affection présentant des caractéristiques osseuses particulières permettant son diagnostic radiologique. La présence de cette maladie chez un sujet du Moyen âge alors que celle-ci n'a été décrite pour la première fois qu'en 1877 nous montre bien l'importance d'une lecture ou d'une relecture attentive des restes humains issus des fouilles archéologiques. D'autre part l'active collaboration entre archéologues, anthropologues et médecins ainsi que de l'utilisation de moyens scientifiques nous semble indispensable pour affiner les descriptions des maladies à manifestation osseuse comme la maladie de Paget.

Bibliographie

1. Charlier P., *La Maladie De Paget Avant Sir James*. Paris, 2006.
2. Karunakaran K., Murugesan P., Rajeshwar G., Babu S. Paget's disease of the mandible. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2012;16(1) :107.
3. Shankar Y.U., Misra S.R., Vineet D.A., Baskaran P., Paget disease of bone : A classic case report. *Contemp Clin Dent*. 2013;4(2) :227-230.
4. Bruzek J., Murail P., Methodology and Reliability of Sex Determination From the Skeleton. In : Schmitt A., Cunha E., MSci JPM, éd. *Forensic Anthropology and Medicine*. Humana Press ; 2006, 225-242.
5. Trotter M., Gleser G.C., A re-evaluation of estimation of stature based on measurements of stature taken during life and of long bones after death. *Am J Phys Anthropol*. 1958;16(1) :79-123.

6. Schmitt A., *Variabilité de la sénescence du squelette humain : réflexions sur les indicateurs de l'âge du décès*, Thèse de doctorat, Université de Bordeaux I, 2001.
7. Mansilla-Lory J., Amezcua-Guerra L.M., Vargas-Rodríguez A., Fernández-Tapia S., Leboireiro I., Resnick D., *et al.*, Leontiasis ossea : a paleopathologic case report. *J Clin Rheumatol Pract Rep Rheum Musculoskelet Dis.* 2007 ;13(5) :269-272.
8. Gruber P, Henneberg M, Böni T, Rühli FJ. Variability of Human Foramen Magnum Size. *Anat Rec Adv Integr Anat Evol Biol.* 2009 ;292 (11) :1713-1719.
9. Charlier P. *Ostéo-archéologie et techniques médico-légales : tendances et perspectives : pour un « manuel pratique de paléopathologie humaine*, Paris : De Boccard ; 2008.
10. Roches E., Blondiaux J., Cotten A., Chastanet P., Flipo R.-M. Microscopic evidence for Paget's disease in two osteoarchaeological samples from early northern France. *Int J Osteoarchaeol.* 2002 ;12(4) :229-234.
11. Malghem J., Vande Berg B., Lecouvet F., Simoni P., Maldague B., Maladie de paget : diagnostic positif et différentiel. *J Radiol.* 2009 ;90(10) :1220.

1.1.3 La mauvaise mort : cas archéo-pédiatriques

En anthropologie, plusieurs concepts liés à la mort ont été développés : il arrive lors de fouilles archéologiques en contexte funéraire, que soient mis au jour des sépultures dites déviantes, c'est-à-dire des dépôts osseux montrant un comportement anormal lors de son enterrement, un aspect non traditionnel du rituel selon la période, la région et les croyances. De plus, en anthropologie sociale comme biologique, il a été décelé dans les écrits et les découvertes, le principe de bonne et mauvaise mort : la bonne mort étant naturelle et la mauvaise mort prématurée. Cette dernière est alors de mauvais augure car elle peut être présage de futures morts et épidémies. L'esprit du défunt peut aussi devenir aigri et vengeur. Différentes pratiques funéraires déviantes doivent alors être mises en place pour empêcher que cette mort ait des répercussions sur le monde des vivants. Parmi ces mauvaises morts figurent les mort-nés.

L'accouchement a toujours été un acte délicat mêlant des sentiments contraires (joie, complications, souffrance et mort) et faisant intervenir des protagonistes qualifiés et expérimentés. Un savoir-faire ancestral associé au réflexe « archaïque » de l'Homme à agir contre la douleur, pour la survie et dans le respect, explique certaines manipulations sur les immatures et leurs mères. L'analogie ethnographique montre, dans les cultures n'ayant pas accès au système médical occidental, l'existence d'un enseignement « maïeutique » par observation des gestes obstétricaux⁶⁴ ou par hérédité. La fragilité de cet acte lui confère très tôt un caractère mystique empreint de croyances. L'intervention d'un tiers pour faciliter la parturition semble ne pas être qu'un réflexe humain puisqu'elle est observée également chez les primates⁶⁵.

Le nourrisson a très peu été considéré dans l'histoire, il est vu comme un être inachevé, comme en témoignent les tableaux médiévaux où l'enfant est représenté comme un petit adulte. Le nourrisson n'a pas fait son entrée dans la société visible et, pendant longtemps, on ne le nomme pas ou on ne lui parle avant d'être certain de sa survie. Il a ainsi toujours été lié à la mort.

Plusieurs sociétés semblent partager ce point de vue vis-à-vis de ces petits êtres. Chez les *Moken*, en Birmanie, le bébé à sa naissance appartient au monde des esprits. Dans la tradition vaudou, et notamment en Haïti, encore aujourd'hui, un très grand soin est apporté au

⁶⁴ DAMUS O. *Les rites de naissance en Haïti*. L'Harmattan, 2012.

⁶⁵ PAN W., GU T., PAN Y. *et al.* Birth intervention and non-maternal infant-handling during parturition in a nonhuman primate. *Primates* 2014 ; 55 : 483.

nouveau-né pour le protéger du mauvais œil nommé *La Djok* ; le sang de l'enfant doit être rendu amer par le biais d'une boisson rituelle composée d'aloès vera et de sang⁶⁶.

Toute naissance est alors considérée comme dangereuse, provoquant la rencontre entre le monde des morts et celui des vivants. La mort d'un enfant est alors de mauvais augure, dans des contextes chrono-culturels aussi divers que l'Antiquité gréco-romaine, où il était considéré que « *L'âme d'un enfant mort en bas âge ne jouissait pas du repos, elle était malheureuse, triste. Sa fin prématurée lui laissait le regret de la vie. De là une haine jalouse contre les vivants qui, eux, en jouissaient en commun* »⁶⁷, le moyen-âge italien, où Dante écrivait : « *Il est là-bas un lieu qu'attristent non point les tourments, mais les seules ténèbres, où les plaintes ne sont que des soupirs et non pas des cris de douleur. C'est là que j'habite avec les enfants innocents, mordus des dents de la mort avant d'avoir été lavés de la souillure humaine.* »⁶⁸, puis la chrétienté où « *Les enfants non baptisés, non dénommés ou non-initiés sont destinés à une existence lamentable, sans pouvoir jamais pénétrer dans le monde des morts ni s'agrèger à la société qui s'y est constituée. Ce sont les morts les plus dangereux, ils voudraient se réagrèger au monde des vivants et, ne le pouvant, se conduisent à son égard comme des étrangers hostiles.* »⁶⁹.

Ces morts-là sont isolés, éloignés autant spirituellement, avec chez les chrétiens la création des Limbes, que physiquement pour les empêcher de nuire aux vivants. Ils peuvent ne pas être inhumés comme les « bons morts » mais doivent bénéficier d'un traitement funéraire complet voire spécifique destiné à apaiser leurs âmes.

En effet, l'archéologie funéraire se caractérise par la mise au jour de dépôts osseux ritualisés avec diverses pratiques selon le rang social du défunt, la période chronologique, la région et les causes de décès. Dès le Néolithique (6500-3950 av. J.-C.), en parallèle de la sédentarisation et de l'élevage, apparaît l'inhumation des membres de la communauté dans un même lieu dédié, et plus précisément la naissance de grands complexes funéraires

⁶⁶ DAMUS O. *Les rites de naissance en Haïti*. L'Harmattan, 2012.

⁶⁷ JOBBE-DUVAL E. Les morts malfaisants. *Larvae lemurs. Le droit et les croyances populaires des romains*. Paris, Jirey, 1924.

⁶⁸ DANTE. *La Divine Comédie, Le Purgatoire*, chant VII, trad. fr. Paris, Gallimard, « La Pléiade », 5e éd. 1983.

⁶⁹ VAN GENNEP A., *Les rites de passage : étude systématique des rites de la porte et du seuil, de l'hospitalité, de l'adoption, de la grossesse et de l'accouchement, de la naissance, de l'enfance, de la puberté, de l'initiation, de l'ordination, du couronnement, des fiançailles et du mariage, des funérailles, des saisons, etc.*, Paris, 1909. Réédition augmentée, 1969, 1981.

hiérarchisés (cairn, tumulus) auxquels sont associés des dépôts de mobilier funéraire tels que des parures et des objets lithiques. Le tout montrant une attention et un soin particulier apportés aux défunts. Dès cette période, l'enfant mort présente un statut particulier dans certaines régions ; sur le site *Catal Höyük* (Turquie) des sépultures de nouveau-nés ont été mises au jour sous le sol des maisons.

Ainsi, lors de décès dus à des problèmes obstétricaux, un enfant ne peut pas être mis en terre dans une position irrespectueuse vis-à-vis de sa mère, à l'instar de l'immatrice découvert entre les fémurs de sa mère sur le site de *Lokomotiv* (Russie). En effet, bien que certaines interventions obstétricaux lors de parturitions difficiles voire fatales ne soient observées en archéologie qu'à partir de l'âge du fer (fœtotomie), rien n'élimine une présence antérieure de ces pratiques, si l'on se réfère à l'analogie ethnographique.

Quelles soient empreintes de pratiques nécrophobiques, c'est-à-dire liées à la peur du retour du défunt dans le monde des vivants, ou de pouvoirs protecteurs, les sépultures d'enfants montrent une attention dans le dépôt. Ces morts sont marginalisés et repérables par un dépôt différentiel, un éloignement, ou au contraire un rapprochement. Lorsque la marginalité n'est pas démontrée, une autre interprétation doit alors être considérée.

Les connaissances littéraires et ethnologiques liées à la « mauvaise mort », le regard médico-légaux et l'analogie ethnographique vont permettre une meilleure compréhension de la parturition ainsi que la proposition d'une relecture de certains dépôts archéologiques osseux humains.

CHARLIER P., COPPENS Y., CHENE G., AUGIAS A., JACQUELINE S., FROESCH P., HUYNH-CHARLIER I. Une archéologie de la parturition chez les pré-humains : tendances évolutives et limites. *Gynécologie, Obstétrique, Fertilité & Sénologie* 2017 ; 45 : 67-69.



Disponible en ligne sur

ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

EM|consulte
www.em-consulte.com



Tribune libre

Une archéologie de la parturition chez les pré-humains : tendances évolutives et limites



An archeology of parturition in prehumans: Evolutionary trends and limits

INFO ARTICLE

Mots clés :

Bassin
Anatomie
Accouchement
Diagnostic rétrospectif
Paléontologie
Histoire de la médecine
Anthropologie

Keywords:

Pelvis
Anatomy
Delivery
Retrospective diagnosis
Palaeontology
History of medicine
Anthropology

1. Introduction

Depuis l'apparition d'*Australopithecus afarensis*, vers 4 millions d'années, les pré-humains n'ont eu de cesse d'évoluer sur le plan anatomique et physiologique. Dans ce court article, nous allons tenter de voir comment le bassin – et, par voie de conséquence, la parturition et la locomotion – se sont modifiés jusqu'à nos jours. Le travail en commun de paléo-anthropologues, d'anatomistes et de gynéco-obstétriciens a permis de mieux comprendre la dynamique évolutive de cette zone-clé dans la survie de l'espèce.

2. *A. afarensis*

Les femmes modernes donnent naissance à des nouveau-nés correspondant en moyenne à 6 % de leur poids, comparativement à d'autres espèces comme les chimpanzés avec 3 % de leur poids ; une telle dichotomie a également été mise en évidence entre pré-humains et autres hominoïdes, à partir de masses estimées d'après les volumes squelettiques. Pour certains, c'est cette disproportion

qui aurait limité le caractère arboricole des individus femelles *Australopithecus* [1].

Lucy, un des spécimens les mieux conservés d'*A. afarensis*, constitue un des squelettes les plus anciens sur lesquels le diagnostic de bipédie a été porté. Et justement, un des éléments majeurs du glissement vers l'homme dans sa forme actuelle a été l'apparition de la bipédie : celle-ci a été facilitée par la bascule du trou occipital (*foramen magnum*) sous la calotte crânienne, une colonne vertébrale en S (cyphose thoracique et sacrée, lordose cervicale et lombaire). Autre nouveauté anatomique : le développement des fesses et l'augmentation de visibilité de la poitrine, qui ont pu jouer un rôle dans l'évolution des rapports de séduction [2]. En profondeur, le bassin s'est élargi et raccourci par rapport à celui, étroit et long, des autres hominoïdes, minorant le risque de prolapsus génital (Fig. 1) [3]. Le canal d'accouchement est devenu plus large transversalement qu'antéro-postérieurement, car la bipédie a favorisé un raccourcissement de l'espace entre les deux hanches. D'autres modifications tenant à la musculature, à la denture et au volume cérébral ont accompagné ce changement radical anatomique.

3. *Australopithecus sediba*

Le bassin d'*A. sediba* a pu être reconstitué à partir de deux sujets incomplets. Ils présentent une morphologie commune avec les australopithèques plus anciens (grand diamètre bi-acétabulaire, petites articulations sacro-iliaques, branche ischio-pubienne longue), mais aussi des caractères qui orientent vers le genre *Homo* (verticalisation et aspect sigmoïde des ailes iliaques, forte robustesse du corps de l'ilion, aspect sinusoïde de la crête iliaque antérieure, ischion court, branche ischio-pubienne orientée en haut). De telles caractéristiques n'autoriseraient-elles pas l'accouchement naturel de nouveau-nés avec un grand volume cranio-cérébral [4].

4. *Homo erectus*

Pour *H. erectus*, c'est sur l'analyse d'un bassin masculin (!) correspondant à un individu jeune (KNM-WT 15000, Kenya), qu'il

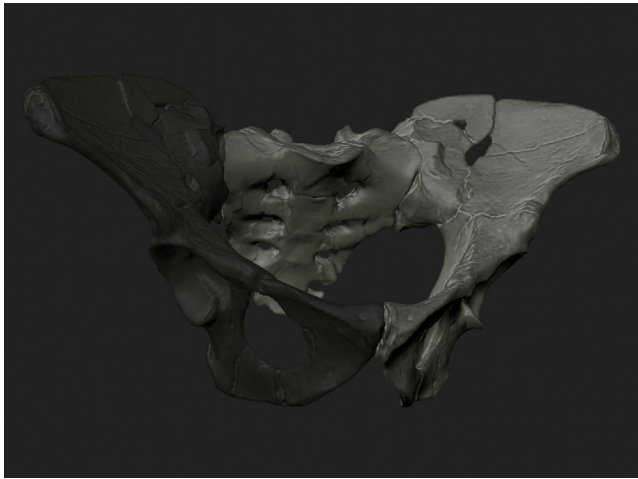


Fig. 1. Reconstruction 3D du bassin de Lucy ; repositionnement virtuel informatique, reconstruction de l'os coxal droit par projection inversée de l'os coxal gauche (reconstruction 3D Philippe Froesch et Philippe Charlier ; numérisation Franz Jullien/MNHN).

avait été conclu une possibilité d'accouchement de nouveau-nés uniquement porteurs d'un faible développement cranio-cérébral (faible encéphalisation). L'étude d'un squelette féminin, cette fois-ci (provenant d'Éthiopie) a montré au contraire que le bassin de cette espèce avait évolué dans le sens d'un accouchement possible pour des nouveau-nés à forte capacité cranio-cérébrale [5]. Ce pelvis indique en tous cas que ni l'adaptation à l'environnement tropical, ni l'endurance à la course n'ont été des facteurs sélectifs pour déterminer la morphologie d'*H. erectus* au moment du Pléistocène.

5. *Homo neanderthalensis*

Pour *H. neanderthalensis*, l'analyse d'un squelette de nouveau-né (Mezmaiskaya, Russie), et de deux squelettes de nourrissons (Dederiyeh, Syrie) a permis d'établir que le volume crânio-cérébral à la naissance était comparable à celui de l'homme moderne (*Homo sapiens*), tout comme le mécanisme d'accouchement [6]. Mais en étudiant un bassin féminin néanderthalien relativement bien préservé (Tabun, Israël), il a pu être montré que l'accouchement présentait approximativement les mêmes risques materno-fœtaux qu'actuellement, mais qu'en revanche, le mécanisme d'accouchement était différent de celui d'*H. sapiens* [7]. Il faut dire qu'entre les deux études, les bassins de référence ont été virtuellement reconstruits par ordinateur, corrigeant d'anciennes erreurs de recollage...

6. *H. sapiens*

L'apparition d'*H. sapiens* il y a environ 200,000 ans en Afrique et au Moyen Orient a précipité l'ultime modification morphologique du bassin féminin, avec une plus grande ouverture circulaire des détroits supérieur et inférieur (autorisant une verticalisation du nouveau-né, et sa rotation au moment de l'accouchement) [8]. Cette modification pourrait être apparue sous la pression d'une augmentation du volume cranio-cérébral et d'une plus grande étroitesse du corps permettant non seulement une meilleure adaptation à la température mais aussi de meilleures performances locomotrices. Pourquoi une encéphalisation du nouveau-né ? L'hypothèse privilégiée reste celle de la domestication du feu ayant permis une cuisson de la viande, donc une

Tableau 1

Liste des espèces pré-humaines évoquées dans le texte avec leurs datations.

<i>Australopithecus afarensis</i>	4 100 000–3 000 000
<i>Australopithecus sediba</i>	2 000 000–1 700 000
<i>Homo erectus</i>	1 500 000–100 000
<i>Homo neanderthalensis</i>	300 000–30 000
<i>Homo sapiens</i>	200 000–présent

meilleure assimilation protéique pour la mère et l'enfant en gestation [9]. Mais cette domestication est plus ancienne que l'apparition d'*H. sapiens* et semble remonter à *H. erectus* ; s'ajoute, pour *H. sapiens*, une augmentation de la densité de population, une meilleure maîtrise des foyers (peut-être plus généralisée que les espèces précédentes), une sélection plus pertinente ou facilitée de l'alimentation, etc.

7. Analyse critique

Toute la difficulté, on l'a vu, dans cette vision diachronique de la parturition chez les pré-humains et apparentés, est dans la rareté des cas examinés (Tableau 1). Les bassins sont très fragmentés (avec parfois des erreurs de remontage qu'une habile reconstruction par scanner médical puis modélisation informatique peut corriger !) [10,11], presque toujours partiels, et en tous cas pas assez nombreux pour porter des diagnostics de certitude sur la totalité de l'espèce. C'est un peu, médicalement, comme si on décrivait un état de santé d'une population en ne se fondant que sur quelques *case reports*... Le biais de sélection est monstrueux. Avec le risque, évident, de décrire une caractéristique d'espèce alors qu'il ne s'agit que d'un sujet pathologique...

Enfin, quelle a pu être la marche évolutive du bassin au cours de cette évolution des espèces pré-humaines ? Quelle position apparaît la plus légitime à l'aune de la juxtaposition de ces publications : déterminisme lamarckien, opportunisme, ou sélection naturelle darwinienne ? Existe-t-il une adaptation de l'espèce au milieu par micro-modifications génétiques ? Ou est-ce le milieu qui influe sur la constitution des espèces ? Ou encore le hasard, tout simplement ?

Il semble en tous cas pertinent de considérer que la station debout et la bipédie ont nécessairement modifié la conformation, la direction et le jeu des pressions sur le bassin, le fermant davantage, le modifiant en segment de tore et rendant plus difficile l'accouchement (d'autant plus que le volume cérébral augmentait aussi pour le fœtus à terme), limitant le risque de prolapsus sauf en cas de lésions obstétricales, ou de facteurs de risque comme l'obésité ou tout ce qui entraîne une surpression abdominale.

Il semble que le rythme et l'enchaînement des mutations soit aléatoires et que ce soit l'environnement qui majoritairement sélectionne ; mais au lieu d'une mutation par-ci par-là, en temps de crises, il pourrait y avoir multiplication des mutations (pour augmenter les possibilités de franchissement d'obstacle biologique ? Et permettre une pérennité d'espèce ?) ; la sélection n'est alors plus la même quand elle a le choix entre 2 ou 200 mutations. On est ainsi à la limite du hasard aveugle et d'une certaine orientation (sans parler pour autant de déterminisme tout de même...). Il faut enfin prendre aujourd'hui en considération l'épigénétique (c'est-à-dire les mécanismes moléculaires qui modulent l'expression du patrimoine génétique en fonction du contexte) et la fluidité du génome. Dans tous les cas, l'expérience, tant médicale que paléontologique, montre bien qu'en majorité, les adaptations sont plutôt réussies.

Déclaration de liens d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

- [1] De Silva JM. A shift toward birthing relatively large infants early in human evolution. *PNAS* 2011;3(108):1022–7.
- [2] Taylor T. La préhistoire du sexe. Paris: Bayard; 1998.
- [3] Chene G, Lamblin G, Lebaill-Canal K, Chabert P, Marès P, Coppens Y, et al. The genital prolapse of *Australopithecus Lucy*? *Int Urogynecol J* 2015;26(7):975–80.
- [4] Kibii JM, Chruchill SE, Schmid P, Carlson KJ, Reed ND, de Ruiter DJ, et al. A partial pelvis of *Australopithecus sediba*. *Science* 2011;333.
- [5] Simpson SW, Quade J, Levin NE, Butler R, Dupont-Nivet G, Everett M, et al. A female *Homo erectus* pelvis from Gona, Ethiopia. *Science* 2008;322.
- [6] Ponce de Leon MS, Golovanova L, Doronichev V, Romanova G, Akazawa T, Kondo O, et al. Neanderthal brain size at birth provides insights into the evolution of human life history. *PNAS* 2008;37(105):13764–8.
- [7] Weaver TD, Hublin JJ. Neandertal birth canal shape and the evolution of human childbirth. *PNAS* 2009;20(106):8151–6.
- [8] Gruss LT, Schmitt D. The evolution of the human pelvis: changing adaptations to bipedalism, obstetrics and thermoregulation. *Phil Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2015;370(1663):20140063.
- [9] Hublin JJ, Neubauer S, Gunz P. Brain ontogeny and life history in *Pleistocene hominins*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2015;370(1663):20140062.
- [10] Berge C, Goullaras D. A new reconstruction of Sts 14 pelvis (*Australopithecus africanus*) from computed tomography and three-dimensional modeling techniques. *J Hum Evol* 2010;58(3):262–72.
- [11] Bonneau N, Bouhallier J, Simonis C, Baylac M, Gagey O, Tardieu C. Shape variability induced by reassembly of human pelvic bones. *Am J Phys Anthropol* 2012;148:139–47.

P. Charlier^{a,*}, Y. Coppens^c, G. Chene^d, A. Augias^a, S. Jacqueline^a,
P. Froesch^a, I. Huynh-Charlier^{a,e}

^aÉquipe d'anthropologie médicale et de médecine légale (UVSQ, EA 4569 Paris-Descartes), 2, avenue de la Source-de-la-Bièvre, 78180 Montigny-Le-Bretonneux, France

^bCASH & IPES, 92000 Nanterre, France

^cCollège de France, 75005 Paris, France

^dDépartement de gynécologie, HFME-HCL, 69000 Lyon, France

^eDépartement de radiologie, CHU Pitié-Salpêtrière, AP-HP, 75013 Paris, France

*Auteur correspondant

Adresse e-mail : philippe.charlier@uvsq.fr (P. Charlier)

Reçu le 17 novembre 2016

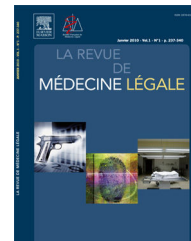
Disponible sur Internet le 17 janvier 2017

AUGIAS A., PROT E., ETCHEMENDIGARAY C., GOUREVITCH D., NOGEL JAEGER J., HERVÉ C., CHARLIER P. *Post-mortem* fetal expulsion : Forensic anthropology lessons from the archaeological field. *La revue de la médecine légale* 2015 ; 6 : 132-136.



Available online at
ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com



TECHNICAL NOTE

Post-mortem fetal expulsion: Forensic anthropology lessons from the archaeological field



« Accouchement post-mortem » : apports de l'archéologie de terrain à l'anthropologie médico-légale

A. Augias^a, E. Prot^b, C. Etchemendigaray^b, D. Gourevitch^c,
J. Nogel Jaeger^d, C. Herve^e, P. Charlier^{a,*}

^aÉquipe d'anthropologie médicale et médico-légale, UFR des sciences de la santé (UVSQ, EA 4569 université Paris-Descartes, CASH de Nanterre), 2, avenue de la source de la Bièvre, 78180 Montigny-le-Bretonneux, France

^bDépartement de Maïeutique, UFR des sciences de la santé Simone VEIL, université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines, 2, avenue de la source de la Bièvre, 78180 Montigny-le-Bretonneux, France

^cÉcole pratique des Hautes Études (IV^e section), sciences historiques et philologiques, en Sorbonne, 45, rue des Écoles, 75005 Paris, France

^dUniversity of Southern Denmark, Odense, Denmark

^eLaboratoire d'éthique médicale et de médecine légale (EA 4569), université Paris-Descartes, 45, rue des Saints-Pères, 75006 Paris, France

Available online 11 November 2015

KEYWORDS

Forensic anthropology;
Maternal mortality;
Retrospective diagnosis;
Taphonomy

Summary The discovery of a burial of a woman associated with a partially expelled fetus in an archaeological context baffles anthropologists for years. Such burials are currently interpreted as complications during parturition; hemorrhage, prematurity and, mainly, dystocia. However, if a combination of field anthropology and forensic science is applied to these findings, the conclusion can often be that of a post-mortem expulsion of the fetus. Discussing the recent osteo-archaeological case from Lokomotiv (Russia), we analyze from a forensic point of view the accuracy of "childbirth complication" or maternity-linked death for such skeletons.

© 2015 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

* Corresponding author at: Équipe d'anthropologie médicale et médico-légale, UFR des sciences de la santé (UVSQ, EA 4569 université Paris-Descartes, CASH de Nanterre), 2, avenue de la source de la Bièvre, 78180 Montigny-le-Bretonneux, France.

E-mail address: philippe.charlier@uvsq.fr (P. Charlier).

MOTS CLÉS

Anthropologie
médicolégale ;
Mortalité obstétricale ;
Diagnostic rétrospectif ;
Taphonomie

Résumé Les découvertes de sépulture féminine associée aux restes partiellement expulsés d'un fœtus dans un contexte archéologique font florès depuis quelques années. De tels contextes sont habituellement interprétés comme des accouchements fatals. Hémorragie, prématurité et dystocie sont majoritairement évoqués. Toutefois, lorsqu'un double regard d'anthropologie de terrain et de médecine légale est appliqué à ces restes humains, les conclusions peuvent être différentes, à savoir celles d'une expulsion fœtale post-mortem. Prenant appui sur le cas ostéo-archéologique récemment publié de Lokomotiv (Russie), nous analysons d'un point de vue médicolégal la pertinence de ces « complications obstétricales » ou « décès en contexte d'accouchement » pour de tels squelettes.

© 2015 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

The discovery of a burial of a woman associated with a partially expelled fetus in an archaeological context baffles anthropologists for years. Such burials are currently interpreted as complications during parturition; hemorrhage, prematurity and, mainly, dystocia (Table 1). However if a combination of field anthropology and forensic science is applied to these findings, the conclusion can often be that of a *post-mortem* expulsion of the fetus. In archaeological context, which is especially true for the recently published Neolithic skeletons of Lokomotiv [1], there is significant mobility of the bones within the volume of the dead body due to putrefaction process. These movements associated with the progressive mobility of the ground, and the movements induced by burrowing animals, can be amplified or modified by those specific to the dynamics of the corpse explosion, slip and floating in the putrefaction fluid, etc. Thus, and as shown in the figures and excavation plans presented in the publication of Lokomotiv [1], it is impossible to determine with certainty the exact anatomical position of the fetuses at the time of death and burial. The anatomical disconnections testify of this *post-mortem* loss of congruence of the articular surfaces, and of the impossibility to know if a wrong position of the fetus played or not a role in the mechanism of death of the woman. Then, favoring a dystocia as a cause of death, and put aside other assumptions, seems to be unjustified.

Decomposition process often overlooked

During the phases of autolysis and putrefaction, the decomposing body produces gases, which cause significantly abdominal swelling [21]. This increases the intra-abdominal pressure as well as the relaxation of the soft tissue. This process may result in an expulsion of the body, particular in the pelvic area. The abdominal cavity may also rupture or explode, in empty space, and, which can result in an external rotation of the upper limbs [22]. Many forensic cases attest to this phenomenon, and in several archaeological cases, the assumption of a *post-mortem* expulsion absolutely cannot be overlooked. The expulsion can occur as a result of an abdominal or vaginally tear. In these cases, the concentration of putrefaction gases in the abdomen provides a pressure on the uterus, which can lead to an expulsion of the previously in utero embryo/fetus. A seat-position of the fetus can then lead to a retention of the head and its natural dismemberment.

Considering such burials, like R11 burial in the necropolis of Lokomotiv (Fig. 1), as explained earlier, it is likely that

post-mortem movements have occurred, and the initial position of the twin fetuses in the grave is therefore uncertain and in particular that of the seat. The cause of death for the woman and both fetuses can have various origins such as obstetric complications, hemorrhage, placental abnormalities, in the form of *abruptio placentae*, placenta insertion abnormalities, etc., or peripartum infection as well as complications linked to pregnancy.

Lieverse et al. rely on Schultz et al. (2005) to consider that "although rare, *post-mortem* fetal extrusion has been documented in both the forensic pathological and archaeological literature, with the condition appearing to affect only pre-term (and thus relatively small) vertex-presenting fetuses". Looking at Table 1, our position concerning this point is that coffin birth (if so) is not only related to little-sized fetuses or embryos, but may involve almost end-of-pregnancy fetuses.

On the field, particular attention regarding the anatomical connections of the fetus should then be observed. It is also important to discuss the type of space in which the body decomposed, since the fetus is less likely to migrate outside the mother's body in a filled in space, but can still see its position change inside the abdominal cavity. Thus, a complication at parturition could be distinguished from a *post-mortem* expulsion. In the case from the necropolis of Lokomotiv, where the remains of a fetus skull were found in the pelvis of the woman and the rest of the fetus body was found between the femurs, there is a lack of data about the anatomical connections of the fetus, however necessary.



Figure 1 Picture of the grave R11 showing accompaniments and fetal remains.

Lieverse et al., 2015 [1].

Table 1 List of all published archaeological cases of peri-partum death and inhumation.

Site	Date	Mother age (years)	Fetal age (weeks)	Features	Interpretation of authors	References
Lokomotiv, Siberia	7725–7630 cal BP, Neolithic	20–25	Full term	Long bones and vertebral arch fragments, were situated outside of the uterine area, while other post-cranial fetal bones were located in the abdominal area	Dystocia	Lieverse et al., 2015 [1]
An Son, Long An Province, southern Vietnam	Neolithic	15–23	38			
Lisieux, Calvados, France	Second quarter of IVth century		32	The bones of the left forearm, placed before the face appear between femur	Coffin birth	Alduc-Le Bagousse and Blondiaux, 2002 [2]
Kingsworthy, Hampshire, UK	Early Saxon period (AD 450–700)	–	–	Woman buried with a fetus partially out of her vagina	–	Hawkes and Wells, 1975 [3]
Oakington site, Cambridgeshire, UK	Early Saxon period (AD 450–700)	25–30		A woman with a fetus down through the pelvic cavity	(Dystocia)/coffin birth	Sayer and Dickinson, 2013 [4]
“El cerro de las Viñas” site in Murcia (Spain)	Argaric period, Bronze Age 1500–1000 BC	25–26	37–39	Transverse position and a right arm out of the uterus	Dystocia	Malosa et al., 2004 [5]
Aebelholt Abbey, Denmark	Middle-age					Moller-Christensen, 1958 [6]
St Nicholas Shambles, London, UK	Middle-age			Woman with cephalopelvic disproportion with the fetus introduced into the birth canal		Wells, 1978 [7]
Helgeandsholmen, Sweden	Middle-age		32–36	Fetus bones found at and near the right knee of a woman	Premature stillborn	Högberg et al., 1987 [8]
	Middle-age			Woman who died in childbirth because her pelvis was obstructed by multiple exostoses	Obstruction	Sjovold et al., 1974 [9]
Poundbury	IVth century				Embryotomy	Gourevitch and Malinas, 1996 [10]
Almohade necropolis, Sevilla	XII–XIIIth century	20–25		Fetus introduced into the birth canal	Dystocia	Inmaculada López Flores and Ma de la Salud Magariño Sánchez, 2007 [11]
Alfossar necrópolis (Novelda, Alicante)	XII–XIIIth century	20	31–32	Fetus in the lower part of the sacrum	Taphonomic	Lopez Segui et al., 2005 [12]

Table 1 (Continued)

Site	Date	Mother age (years)	Fetal age (weeks)	Features	Interpretation of authors	References
Muslim Baza necropolis, Granada, Spain	XI–XIVth century	21–25	29–31	Remains of a fetus found between a femurs of a woman	Coffin birth	Rascon Perez et al., 2007 [13]
Cimetière Saint-Valérien Tournus	XVI–XVIIIth century	Young adults		Two pregnant women with Beclard points found near the distal ends of the femurs	Dead layer	Depierre, 1994 [14]
Mas Rimbau Farragona, Spain	1570+60 BP			Remains of a fetus found in the pelvic cavity, lower limbs appeared by the vulvar slit = expulsion	Dystocia	Campillo et al., 1998 [15]
Jerez de la Frontera church, Cádiz	XVIIth century	30–40			Dystocia	Inmaculada López Flores and Ma de la Salud Magariño Sánchez, 2007 [11]
Olival's churchyard in Ourém, Portugal	XIXth century	25–30	36–40	Woman buried with a fetus in the pelvis (skull partially out of the pelvic cavity)	Dystocia	Cruz and Codinha, 2010 [16]
Le Morne Cemetery, Mauritius	XIXth century	–	36–40	3 fetus? Whose twins	Coffin birth/infanticide	Appleby et al., 2012 [17]
Ampurias		2 women 20–35		Full-term fetus Skull appeared in the pubic symphysis and legs bent towards the abdomen of the woman		Agustí and Codina, 1992 [18]
Roonka, Murray River, South Australia			Full term		Murder by compassion just after birth	Pounder et al., 1983 [19]
Arikara villages				Woman with in utero fetus remains	–	Owsley and Bradtmiller, 1983 [20]

Indeed, if the skeleton of the fetus is anatomically connected, the hypothesis of complications following childbirth last seat with retention of the head is reliable but if the anatomical connections are loose or nonexistent, the assumption of bioturbations or *post-mortem* expulsion should then be preferred. The rarity of cases, the lack of data about the anatomical connections and the exact positions of the remains, and the absence of soft tissue do not allow any scientific assertion as to the causes of death or the chronology of the mother's death/child, as mentioned by the authors.

In the laboratory, an examination of pathological and traumatic injuries should instantly be conducted on the skeleton in order to determine if the injuries are related to childbirth or not. These types of obstetric examinations have been done for several archaeo-anthropological case studies such as sites of Ancient Pydna (4th c. BC) [23], Cagny

(Calvados) La Tène 399-303 av. J.-C. [24], Poundbury (4th c. AD) [10] and Lisieux (4th–5th c. to 6th–9th c. AD) [2].

Several hypotheses to explore

To the finds from the obstetric examination follows the ritual impossibility of burying a woman and child in such a position. The authors explain the burial of the mother with the child between his legs, by the inability to retrieve the child from the womb of the woman. However, several extraction techniques have been practiced and developed. Indeed, although the terms are anachronistic, if a final head retention would have killed the child, an embryotomy, and in this case a craniotomy, would have been performed in order to save the woman.

The historical data available is not sufficiently enough to describe fetal rescue techniques to consecutive maternal

death. Indeed, caesarean section and embryotomy described since antiquity by Hippocrates (5th c. BC), Soranus of Ephesus (2nd c. AD) [25,26] and Tertullian (3rd c. AD), but nothing preclude a previous practice. However, cases of foetotomy are also attested from the Iron Age, proving the existence of such a practice in an extra-Hippocratic influence area [24]. More importantly, in the cases where both the woman and the child would die, and no help was delivered in order to save either of them, out of decency, belief, respect, love or humanity, the child would not have been left between the legs of the woman. Put in context, these obstetrical practices could be implemented by accompanying such that can find in Mali among nomadic Kel Tamasheq. Here a woman experienced in childbirth would assist women in labor, and acting as a "midwives" [27].

It is only in the cases where a full term fetus is located in a malformed pelvis, that a death of the woman due to childbirth seems to be the most credible hypothesis [28]. The only certainty that emerges from such findings is that death occurred in the context of a pregnancy, but not necessary followed a complicated delivery. Indeed, the vision of forensic experts (both pathologists and anthropologists) is important to correctly consider the maternal cause of death, which is too frequently attributed to laboring complications (such as the dystocia evoked by Lieveuse et al.) without considering other possibilities.

Disclosure of interest

The authors declare that they have no competing interest.

References

- [1] Lieveuse AR, Bazaliiskii VI, Weber AW. Death by twins: a remarkable case of dystocic childbirth in Early Neolithic, Siberia. *Antiquity Publications Ltd*; 2015.
- [2] Alduc-Le Bagousse A, Blondiaux J. Mortalité maternelle et périnatalité au premier millénaire à Lisieux (Calvados, France). *Bull Memoires Soc Anthropol Paris* 2002;14:2–4 [Paris].
- [3] Hawkes SC, Wells C. An anglo-saxon obstetric calamity from Kingsworthy. *Hampshire Med Biol Illus* 1975;25:47–51.
- [4] Sayer D, Dickinson S. Reconsidering obstetric death and female fertility in Anglo-Saxon England *World Archaeology*; 2013.
- [5] Malosa A, Alesan A, Safont S, Ballbe M, Ayala MM. A dystocic childbirth in the Spanish Bronze Age. *Int J Osteoarchaeol* 2004;14:98–103.
- [6] Moller-Christensen V. *Bogen om Aebelholt kloster*. København, Dansk Videnskabs Forlag; 1958.
- [7] Wells C. A mediaeval burial of a pregnant woman. *Practitioner* 1978;221(1323)442–4.
- [8] Högberg U, Iregrent E, Siven C-H, Diener L. Maternal deaths in medieval Sweden: an osteological and life table analysis. *J Biosoc Sci* 1987;19:495–503.
- [9] Sjøvold T, Swedborg I, Diener L. A pregnant woman from the Middle Ages with exostosis multiplex. *OSSA* 1974;1:3–23.
- [10] Gourevitch D, Malinas Y. « Présentation de l'épaule négligée. Expertise d'un squelette de fœtus à terme découvert dans une nécropole du IV^e siècle à Poundbury » (Dorset - UK). *Rev Fr Gynecol Obstet* 1996;91(6)291–303.
- [11] Flores IL, Sánchez MSM. Dos casos de embarazos a término con evidencias de distocia procedentes de contextos arqueológicos de época medieval y moderna. *Paleopatología* 2007;4:1–10.
- [12] Lopez Segui E, Torregrosa Gimenez P, Quiles Muñoz J, De Miguel Ibáñez MP, Navarro Poveda C. La necrópolis islámica de L'Alfonsar (Novelda, Alicante). *Recerques del Museu D'Alcoi* 2005;14:143–56.
- [13] Rascon Perez J, Cambra-Moo O, Gonzalez Martin A. A multidisciplinary approach reveals an extraordinary double inhumation in the osteoarchaeological record. *J Taphonomy* 2007;5:91–101.
- [14] Depierre G. Deux femmes mortes en couches et enterrées dans le secteur des enfants au cimetière Saint-Valérien à Tournus (Saône-et-Loire). In: Buchet L, editor. *La femme pendant le Moyen Âge et l'époque moderne. Actes des sixièmes journées anthropologiques de Valbonne*. 1994. p. 1992.
- [15] Campillo D, Vilaseca A, Casemitjana E, Ayestaran N. Esqueleto de una mujer fallecida por distocia perteneciente al periodo tardorromano (Mas Rimbau, Tarragona). *Empúries* 1998;52:251–6.
- [16] Cruz CB, Codinha S. Death of mother and child due to dystocia in 19th century Portugal. *Int J Osteoarchaeol* 2010;20:491–6.
- [17] Appleby J, et al. The Non-Adult Cohort from Le Morne Cemetery, Mauritius: a snap shot of early life and death after abolition. *Int J Osteoarchaeol* 2012;33(4).
- [18] Agustí B, Codina D. Noves aportacions al coneixement de les necropolis empordaneses. *Annals de l'Institut d'Estudis Empordanesos (Figueres)* 1992;25:383–97.
- [19] Pounder DJ, Prokopec M, Pretty GL. A probable case of euthanasia amongst prehistoric aborigines at Roonka, South Australia. *Forensic Sci Int* 1983;23(2–3)99–108.
- [20] Owsley DW, Bradtmiller B. Mortality of pregnant females in Arikara villages: osteological evidence. *Am J Phys Anthropol* 1983;61(3)331–6.
- [21] Clark A-C, Worrell M-B, Pless J-E. Postmortem changes in soft tissues. In: Haglund W-D, Sorg M-H, editors. *Forensic taphonomy. The postmortem fate of human remains*. CRC Press; 2006.
- [22] Charlier P, Durigon. L'apport de la médecine légale à la paléopathologie. In: Charlier P, editor. *Ostéo-archéologie et techniques médico-légales : tendances et perspectives. Pour un Manuel pratique de paléopathologie humaine*. Paris: De Boccard; 2008.
- [23] Triantaphyllou S. An obstetric fatality from Northern Greece. Department of Archaeology and Prehistory, University of Sheffield, England [non publié].
- [24] Corde D, Laquay L, Augias A, Poupon J, Dewitte J-M, Charlier P. Un cas ancien de foetotomie, La Tène (399-303 av. J.-C.), Cagny (14). In: Charlier P, Gourevitch D, editors. *Colloque international de pathographie—mai 2013*. Paris: De Boccard; 2015. p. 21–31.
- [25] Soranos D'ephese. *Maladies des femmes. Texte et traduction par P. Burguière, D. Gourevitch, Malinas Y*. Paris: Les Belles Lettres, Livre IV; 1996.
- [26] Cabrol D, Goffinet F. *Protocoles cliniques en obstétrique. Abrégés de périnatalité, . 4^e ed.*, Paris: Masson; 2013.
- [27] Erless M-A. *La grossesse et le suivi de l'accouchement chez les touaregs Kel-Adagh (Kidal, Mali). L'Harmattan (coll. Études africaines)—La Sahélienne éd.*; 2010.
- [28] Wells C. Ancient obstetric hazards and female mortality. *Bull N Y Acad Med* 1975;51(11)1235–49.

CHARLIER P., AUGIAS A., CORDE D., MARTIN T. Dental anomalies of a French Iron-age « vampire » : a forensic point of view for evil-eye and *post-mortem* practices. *6^e Colloque International de Pathographie* 2015 : 145-158.

CHARLIER P.⁽¹⁾, AUGIAS A.⁽¹⁾, CORDE D.⁽²⁾, MARTIN T.⁽³⁾

DENTAL ANOMALIES OF A FRENCH IRON-AGE “VAMPIRE” : A FORENSIC POINT OF VIEW FOR EVIL-EYE AND POST-MORTEM PRACTICES

ANOMALIES DENTAIRES D’UN « VAMPIRE » DE L’ÂGE DU FER (FRANCE) : APPORT DE LA MÉDECINE LÉGALE À L’ÉTUDE DU MAUVAIS-ŒIL ET DES MODIFICATIONS POST-MORTEM

Abstract

In 2013, archaeological excavations conducted in the municipality of Jort in Lower-Normandy by Inrap (National Institute for Preventive Archaeological Research) exhumed an Iron-Age necropolis (150-20 BC) of sixty-five graves, including five adults and sixty children (from infancy to 6-year-old). Among these burials is the tomb of a 5-6 year-old child (No. 162), rich with *post-mortem* offerings, with a medium limestone stone inserted into the mouth and the presence of two supernumerary deciduous incisors in ectopic position at the bottom of the palate. These two associated facts, and the date of the site make this burial an exceptional discovery. The complete forensic analysis of the skeleton indicated that anatomical anomalies may have been at the origin of the funeral procedures referring to so-called “vampire” (necrophobia) as seen during the Middle ages and later. This case highlights the fact that forensic anthropology is essential to the global analysis of skeletons, especially in the context of understanding global positioning of a body (taphonomy, *post-mortem* modifications) and the subsequent state of health (including anatomical variations that could lead to dramatic social consequences).

Résumé

En 2013, les fouilles archéologiques menées sur la commune de Jort, en Basse-Normandie, par Inrap (Institut national pour la recherche archéologique préventive) ont exhumé une nécropole de l’âge du fer (150-20 av. J.-C.) constituée de soixante-cinq tombes, dont cinq adultes et soixante enfants (de la naissance à 6 ans). Parmi ces sépultures se trouve

(1) Équipe d’Anthropologie Médicale et Médico-Légale, UFR des Sciences de la Santé (UVSQ, AP-HP), 2 avenue de la source de la Bièvre, 78180 Montigny-le-Bretonneux, France.

(2) INRAP- Centre Archéologique de Basse Normandie, 4 boulevard de l’Europe 14540 Bourguebus

(3) Chirurgien Dentiste, 5 Rue de l’Égalité, 37390 NOTRE DAME d’OE.

l'inhumation (n° 162) d'un enfant âgé de 5 à 6 ans, richement accompagné d'offrandes *post-mortem*, avec une pierre calcaire de taille moyenne placée dans la bouche et la présence de deux incisives déciduales surnuméraires en position ectopique au fond du palais. Ces deux faits associés et la date du site font de cette inhumation une découverte exceptionnelle. L'analyse approfondie du jeune squelette a mis en évidence que ces anomalies dentaires pouvaient être à l'origine de pratiques funéraires se rapportant au soi-disant « vampire » (nécrophobie) tel qu'on le connaît depuis le Moyen-âge. Ce cas souligne l'importance de l'anthropologie médico-légale dans l'analyse globale des squelettes, en particulier dans le contexte de la compréhension du positionnement global d'un corps (taphonomie, modifications *post-mortem*) et dans la détermination de l'état de santé (y compris les variations anatomiques qui pourraient conduire à conséquences sociales dramatiques).

Introduction

The fear of the living dead is ancestral (1). It is reflected in archaeology since the Middle oriental Neolithic age (2) but also in art, literature, folklore of ancient Greece. These beliefs and practices, however, seem to increase during the Middle-Ages. Several social factors may be responsible for such *post-mortem* (funerary) practices detectible at the occasion of a careful osteo-archaeological examination (**Tables 1 & 2**). Individuals considered by living communities to be “vampire” may correspond, for example, to them being victims of a murder or suicide, or being either the subject victim or the cause of a plague (i.e. family or friends of the deceased dying shortly after him), or to an individual whose cadaver remains hot and/or a body that does not decompose (3, 4). Meanwhile, a forensic anthropological examination of the human remains (bones, putrefaction fluid deposits) may explain these beliefs and deviant procedures by revealing specific diseases of the deceased, whether they are congenital or acquired : porphyria cutanea tarda (photosensitivity, hypertrichosis, epidermolysis bullosa, etc.) (5), rabies, ergotism, epidemics (such as cholera or plague, which can be seen in sites like Lazzaretto Nuovo, Venice (Italy) or in Gliwice in Poland), or the natural *post-mortem* changes of a dead body (6).

To prevent the dead from returning to the living community, the ritual treatment of the “cadaver” is generally uniform : the methods employed have included the use of stones (inserted within the mouth for preventing the vampire from eating or biting living individuals), nails (inserted within the body for fixing it to the grave and preventing any movement) or removal of the skull to prevent the deceased's ability to find its way back to the living ones (7). Previous archaeo-anthropological cases have been recorded in Europe (**Table 3**) dated from Neolithic to modern time, mainly in the Eastern part of the continent, that can be classified within two main categories : prevention of the deceased from returning or from attacking the living (including biting). Recorded practices vary from the skeleton being covered (i.e. weighted) with a heavy stone on the chest or skull, a brick or stone inserted down in the mouth, wood/iron nails planted in the body, fragmentation of the

body. To date, no case of any “vampire” or “ghost” characterized by a *peri-mortem* exorcism ritual has been recorded in France from osteo-archaeological excavation.

Material and methods

In 2013, a Celtic necropolis dating from the La Tène period (450 – 20 BC) was excavated in the village of Jort, in Lower-Normandy, France. Out of a total of sixty-five graves, the burial #162 strongly differed by its dating and the type of cadaver deposit. Since the excavations by the archaeo-anthropologists of the Inrap, it has been hypothesized that such funeral particularities may be explained by the peculiar physical feature of the deceased. This skeleton went through a complete forensic and anthropological examination (6).

Results

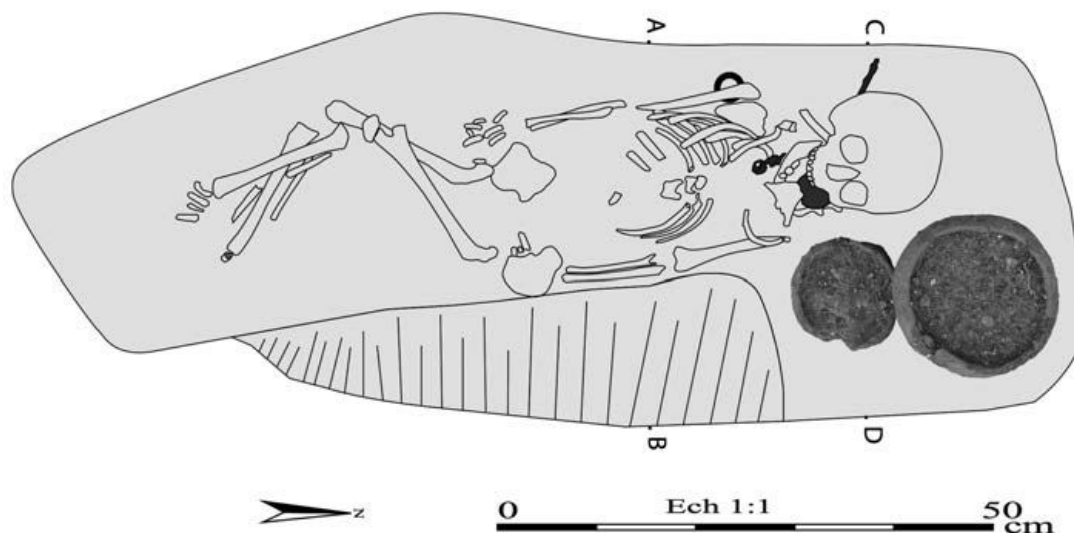


Fig. 1 : General view of the burial #162 (picture by D. Corde).

The 1.15 m maximum-length grave was dug at a relative depth of 80 cm below the current ground, with pit limits carved into the limestone and filled with a brown sediment mixed with powdered limestone (Fig. 1). A precise dating was given by the associated offerings (two ceramics, two iron fibulae, a lignite bracelet) corresponding to the late La Tène period (150-20 BC). During the excavation, a very particular object was discovered in the grave : a medium caliber limestone deliberately placed within the mouth of the deceased (Fig. 2).

The buried individual, oriented north-south, was supine with arms along the trunk and the legs flexed on the right side. Deposited directly on the limestone at the bottom of the pit, he presents all the characteristics of a primary burial with a decomposition arising in an empty space (due to these observations, it has been suspected that a board covered the grave). The horizontal position of the cervical



Fig. 2 : *Lateral view of the skull from burial #162 (picture by D. Corde).*



Fig. 3 : *Vestibular, distal, mesial and lingual view (from left to right) of the right inferior canine (tooth 83) from burial #162 (picture by T. Martin).*

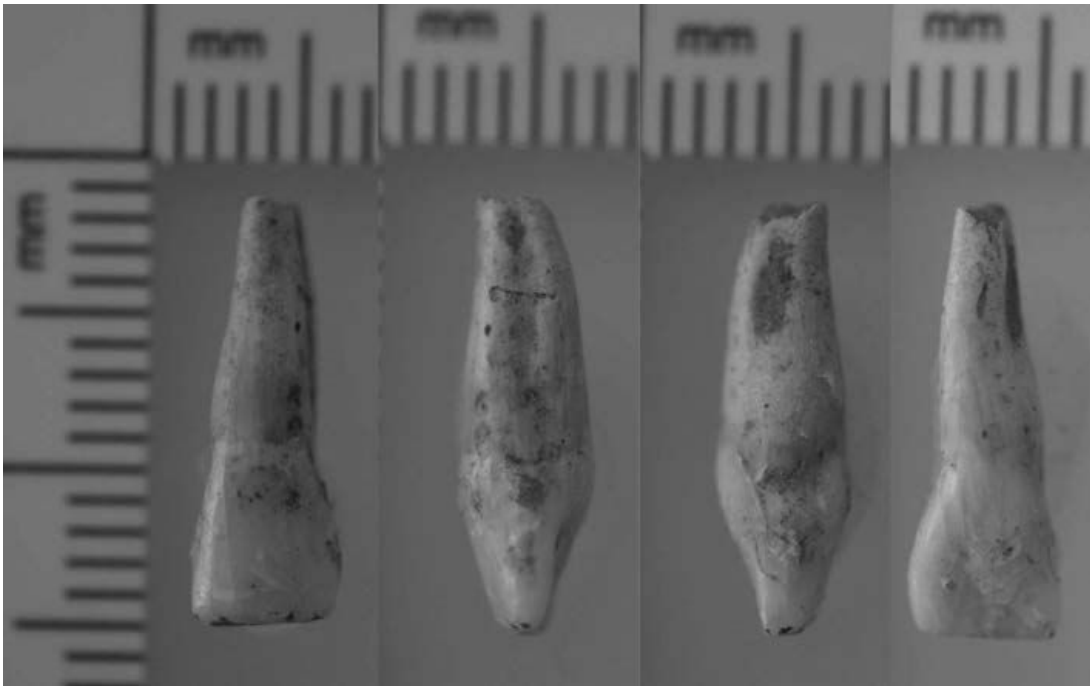


Fig. 4 : *Vestibular, mesial, distal, palatal views (from left to right) of the supernumerary teeth 62bis (picture by T. Martin).*



Fig. 5 : *3D-photogrammetry of the mandible and maxillary from burial #162 (picture by L. Vipard and D. Corde).*

vertebrae and the sediment layer identical to the substrate clearly confirm the hypothesis of a cephalic cushion made of perishable material or sediment.

Anthropological analyses have yielded the age during death at 5 to 6 year-old (dental and bone age) (8), with a stunting of approximately 15 centimeters (stature between 0.90 and 1.0 meter-long). It was not possible to determine the sex of this individual. From a pathological point of view, the skull had Wormian bones and a complex dental anomaly : an agenesia of all four upper and lower second premolars (teeth #15-25-35-45), and the presence of two supernumerary single-rooted teeth in ectopic position whose morphology looked like the lateral incisors (teeth 52bis and 62bis) (Fig. 3-5). Both supernumerary teeth were located on the bony palate, between the seeds of the first and second molar (teeth #17-18-27-28-37-38-47-48); they were backward and out of the oral cavity but did not represent any functional impairment. Due to their size (14 mm) and complete exposure, they were without any doubt clearly visible from the outside of the mouth.

Discussion

From a retrospective diagnosis point of view, this complex dental anomaly can be strictly isolated, related to a familial tendency, or associated with a more general syndrome (Gardner's syndrome, Fabry Anderson syndrome, Ellis Van Creveld syndrome, Ehlers Danlos syndrome, Incontinentia Pigmenti and tricho-rhino-phalangeal syndrome and developmental disorders such as cleft lip and palate, and chondroectodermal dysostosis).

Cleidocranial dysplasia may be proposed as an explanation for the stunting of this juvenile. Maybe supernumerary deciduous teeth follow the same development than the permanent ones, which "can be explained by incomplete or severely delayed resorption of the dental lamina, which is then reactivated with the completion of the ring normal permanent teeth." (9)

The etiology of the hyperdontia is still not totally understood. In fact, numerous exogenous factors can interfere with odontogenesis. Some authors have reported that tooth anomalies can result from a complex interplay of genetic factors and developmental processes. One interesting theory, supported in the literature, suggests that the local and independent hyperactivity of dental lamina results in an excessive proliferation of cells, which results in the formation of extra tooth buds. Supernumerary teeth are more frequently observed in permanent dentition than in deciduous dentition with a higher frequency for the upper arch than lower arch in a proportion of 10 :1. The prevalence of supernumerary teeth is 0.15–1% in permanent dentition and 0.3–0.6% in the primary dentition with proportion of 2 :1 for male sex (10).

Out of the precise diagnosis, two other points may be discussed : the origin of the dental anomalies, and the social practices related to this individual (could it be related to his dismorpho?). Was the stone, indeed, intentionally deposited within the mouth of this individual? A previous osteo-archaeological case from the Laza-

retto Nuovo (11, 12) recently brought to surface the high difficulty of answering such a question. Indeed, taphonomy plays a crucial role in understanding such findings.

In our case (burial #162), several bone disorders were observed during the excavations : the whole ribs and the left scapula followed a left movement. Several ribs present tearing, fracture and migration. And the right clavicle fell. In addition, a rise of chondro-costal end of the left ribs is observed, due to the weight and the fall of other upper ribs. The left fibula has a *post-mortem* fracture due to its position in unstable equilibrium on the right tibia and the fall of an external element (such as a surface plank) exerting pressure on the diaphyseal center. A metatarsal also suffered displacement and *post-mortem* fracture. All these movements have occurred without constraint.

The primary character of the skeletonized deposit and its decomposition into an empty space could be determined based on the elements aforementioned. These factors also show the subsequent opening of the tomb. However, this opening happened while the body wasn't yet clogged and only partially decomposed (in the early days or weeks following the death) (13).

There are persuasive evidences of the intentional nature of stone deposition in the mouth of the deceased. First, its size which is higher than all the nodules composing the filling. Natural shift of such a template in a clogged space seems very unlikely. In addition, the fall resulting from the collapse of a surface plank is equally impossible when considering the particular empty space and the position of the stone in the mouth. The stone is, in fact, deeply inserted into the mouth and its inclination is contrary to the dynamics of expansion. The mandible, disconnected and fallen to the side where the stone was located, confirms that the voluntary deposit was made before the complete loss of organic matter. The hypothesis of bioturbations can clearly be excluded due to a lack of any physical evidence.

Conclusion

This burial from the Celtic period is characterized by a special burial practice related to supernatural beliefs (vampirism, although this term is anachronistic in this case). On the contrary to other “vampire” anthropological cases (14-15), this burial combines, for the first time, the *post-mortem* procedure inflicted on the cadaver (intentional closure of the mouth with a large stone) to a rare and special dental feature, close to the one of the classical vampire image : supernumerary incisors instead of canine hypertrophy.

Acknowledgments

All the authors would like to thank Chris-Cécille Besnard for the ceramic analysis, and Karine Chanson for the fibulae examination.

References

1. Frazer J.-G., *The Golden Bough. A study in magic and religion*. McMillian Press, London 1894.
2. Charpentier V., Charlier P., "First evidence of necrophobia in Neolithic Arabia", presented in *Society for Arabian Studies Biennial Conference*, "Death, burial and the transition to the afterlife in Arabia and adjacent regions", British Museum, London, 2008.
3. Barber P., *Vampires, burial, and death : folklore and reality*. Yale University Press, Yale, 1990.
4. Tsaliki A., "Unusual Burials and Necrophobia : An Insight into the Burial Archaeology of Fear", in Murphy E.M., *Deviant Burial in the Archaeological Record*, Oxford, 2008.
5. Bessis D, Hellier I, Dereure O, Guilhou JJ. Porphyrie cutanée tardive. *Ann Dermatol Vénérolog* 2001 ;128 :1068-1074.
6. Patou-Mathis M. Les altérations taphonomiques et les pseudo-pathologies. In Charlier P., dir. *Ostéo-archéologie et techniques médico-légales : tendances et perspectives. Pour un Manuel pratique de paléopathologie humaine*. Paris, 2008.
7. Andreesco I., *Où sont passés les vampires ?* Payot, Paris, 1997.
8. Schour I, Masser M., Studies in Tooth Development : The Growth Pattern of Human Teeth. *J Am Dent Ass* 1940 ; 27 :1778-1793.
9. Balzarini C., *La dysplasie cleido-crannienne : prise en charge et solutions thérapeutiques des anomalies dento-maxillaires*, thèse, Faculté d'odontologie, Université de Lorraine 2013.
10. Acharya S, Ghosh C, Mondal PK. Bilateral Supernumerary Teeth in Deciduous Dentition-A Rarity. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2014;8(5) :ZD18-ZD19.
11. Nuzzolese E., Borrini M., Forensic approach to an archaeological casework of "vampire" skeletal remains in Venice : odontological and anthropological prospectus. *J Forensic Sci* 2010 ; 55(6) :1634-1637.
12. Minozzi S., Fornaciari M.A., Fornaciari M.D., Commentary on : Nuzzolese E, Borrini M. Forensic approach to an archaeological casework of "vampire" skeletal remains in Venice : odontological and anthropological prospectus. *J Forensic Sci* 2010 ; 55(6) :1634-1637. *J Forensic Sci*, 2012 ; 57(3) : 843-844.
13. Vass A.A, Barshick S.A., Sega G., Caton J., Skeen J.T., Love J.C., Synstelién J.A., Decomposition chemistry of human remains : a new methodology for determining the *post-mortem* interval. *J Forensic Sci* 2002 ; 47(3) :542-553.
14. Lecouteux C., *Histoire des Vampires, autopsie d'un mythe*, Imago, Paris, 1999.
15. Le Brun A., *Fouilles récentes à Khirokitia (Chypre) : 1977-1981*. Editions du CNRS, Paris, 1984.
16. Murgoco A., "The vampire in Roumania". DUNDES A., *The Vampire : A Case-book*. The University of Wisconsin Press, Madison, WI, 1998.

17. Barber P., Forensic Pathology and the European Vampire, Dundes A., *The Vampire : A Casebook*. The University of Wisconsin Press, Madison, WI, 1998.
18. Charlier P., *Male mort : Morts violentes dans l'Antiquité*. Fayard, Paris, 2009.
19. Farrell M., Trowel Volume XIII. Prone, stoned, and losing the head : Deviant burials in early medieval Ireland in the 5th to 12th centuries. *Trowel Volume 23*. Edited by Susan Curran *et al.* p. 56-72. The Individual Contributors : Dublin, Ireland. 2012.
20. Lorenzi R., Vampire Skeleton Rediscovered in Britain, *Archaeology News*, 2012. Online information available at <http://www.archaeologynews.org/link.asp?ID=1684764&Title=Vampire%20Skeleton%20Rediscovered%20in%20Britain>. (Accessed december 2014).
21. Brunwawsser M, "Vampire-Proofing Your Village", *Archaeology*, 2012, 65(5) : 13.
22. Patel S., Plague Vampire Exorcism. *Archaeological Institute of America Archaeology Archive*. 2009. Online information available at <http://archive.archaeology.org/online/features/halloween/plague.html> (Accessed december 2014).
23. Jenkins M.C., *Vampire Forensics Uncovering The Origins Of An Enduring Legend*. National Geographic Society, Washington DC, 2010.
24. Sledzik P.S., Bellantoni N., "Bioarchaeological and Biocultural Evidence for the New England Vampire Folk Belief", *The American Journal of Physical Anthropology* 1994; 94(2) :269-274.
25. Pringles H., Archaeologists Suspect Vampire Burial; An Undead Primer, National Geographic, 2013, Online information available at <http://news.nationalgeographic.com/news/2013/07/130715-vampire-archaeology-burial-exorcism-anthropology-grave/> (Accessed december 2014).
26. Leblond L., Vampire Graves Unearthed, Costa Rican Times, 2013, Online information available at <http://www.costaricantimes.com/vampire-graves-unearthed/21282> (Accessed december 2014).
27. Polskie Radio Dla Zagranicy NA. "Vampire Graveyard in Poland?", 2013, Online information available at <http://redaktorext.polskieradio.pl/1/9/Artykul/141129,Vampire-graveyard-found-in-Poland> (Accessed december 2014).
28. Gardela L., "The Dangerous Dead : Rethinking Viking-Age Deviant Burials", *Conversions : Looking for Ideological 2013. Change in the Early Middle Ages*. Slupecki, Leszek and Rudolf Simek, ed. Verlag Fassbaender, Vienna, 2013.

Tables

Table 1. *The tests to know if any dead man is a vampire (16).*

<p>His household, his family, and his live stock, and possibly even the live stock of the whole village, die off rapidly.</p>
<p>He comes back in the night and speaks with the family. He may eat what he finds in dishes and knock things about, or he may help with the household and cut wood. Female vampires also come back to their children.</p>
<p>The priest reads a service at the grave. If the evil does not cease, it is a bad sign.</p>
<p>A hole about the size of a serpent may be found near the tombstone of the dead man. If so, it is a sign of vampire, because vampires come out of graves by such holes.</p>
<p>Even in the daytime a white horse will not walk over the grave of a vampire, but stands still and snorts and neighs.</p>
<p>A gander, similarly, will not walk over the grave of a vampire.</p>
<p>On exhuming the corpse, if it is a vampire it will be found to be : red in the face, even for months and years after burial, with the face turned downwards, with a foot retracted and forced into a corner of the grave or coffin. If relations have died, the mouth will be red with blood. If it has only spoilt and ruined things at home, and eaten what it could find, the mouth will be covered with maize meal.</p>

Table 2. *Information about classical vampires and revenants (17).*

<p>Murder victims, suicides, and victims of plague tend to become revenants. Indeed, revenants cause plague. They were often unpopular people even before their deaths.</p>
<p>The earth is disturbed at the revenant's grave, or there are holes in the earth.</p>
<p>The body has not decomposed, is bloated, and is flushed and ruby.</p>
<p>He may suck blood from his victims, evidence of which is the bloating and the blood at the lips of his body when he is found in his grave.</p>
<p>The friends and the neighbors of the revenant die after his death.</p>
<p>He can be heard in the grave, chewing on his extremities or on the shroud, especially in times of plague.</p>
<p>He is most likely to be about in the winter.</p>
<p>His body is warm to the touch.</p>
<p>He has an evil smell.</p>
<p>His body shows no signs of rigor mortis.</p>

His hair and nails have continued to grow after death.
His principal natural enemies are wolves and dogs.
He cannot cross water and must return to his grave by sunrise.
Potential revenants may be disposed of in swamps.
It takes some time for a person to become a revenant after death.
He can be killed by the following means : pierce him with a stake in different areas and with types of wood, cut off his head, cut out his heart, burn him, or all of the above.
He may be kept in his grave by pinning him to his coffin or to the ground of his grave, or by securing the grave with bolts or weighing down the body.
He may be controlled by the harnessing of their compulsions, as by scattering poppy or millet or mustard seeds in their graves, or by putting a fishing net or a sock into the graves with them.
Flames shoot out of the mouths of some Slavic vampires.
When a revenant is killed in his grave, he is apt to scream or groan and to move suddenly, and fresh blood flows from his wounds.
You may protect yourself from him by means of garlic.
They are frequently described sitting up after death, sometimes in the grave or coffin.
Vampirism is a phenomenon of the villages, not of the cities ; of the lower classes, not the upper.

Table 3. Cases of “vampirism practices” from recent most significant osteo-archaeological cases.

Place	Datation	Date of discovery	Type of site	Post-mortem change	NMI	Sex	Age	Context	Ref
Kalyvia, Attica, Greece	8 th -5 th BC	-	Cemetery	A large rock had been deliberately positioned at the center of the body	2	-	-	-	(15)
Asine (Argolide)	Helladic		Necropolis	Stones on the chest	4	-	-	-	(17)
Champs-de-l’image (Saint-Marcel)			Necropolis	Spikes in inhumations and cremations		-	-	-	(18)
Kalfata (Bulgaria)	3 th c. BC	?	Necropolis	Cadaver fixed at the level of the chest by a wood picket	1	-	-	-	(18)
Musama (Etrurie méridionale)	2 th -3 th c.		Necropolis	Spikes	9	Male Female	Adults	-	(18)
Calade (Var)	3 th c.		Necropolis	Skull perforated with 4 spikes and 8 in the inhumation	1	-	7	-	(18)
Debelt (Bulgaria)	4 th c.	2004	-	Cadaver perforated with iron pins	6	-	-	-	#
Kilteacheen (Ireland)	8 th c.	2005	Cemetery	Stone in the mouth	2	Male	20-30 and 40-60	-	(19)
Southwell (UK)	550-700	1959	-	Metal spurs in both shoulders, heart and ankles	1	-	-	-	(20)
Vratsa (Bulgaria)	Medieval	2014	Cemetery	Large stone on the left side of the chest, attached feet	1	Male	Elder	Very tall individual (1.80 m)	#
Sozopol (Bulgaria)	13 th -14 th c.	2012	-	Fracturation of teeth, cadaver fixed with a plowshare on the left chest	1	Male	-	May be the pirate Krivich	(21)

Perperikon (Bulgaria)	13 th -14 th c.	-	-	-	Plowshare on the chest	-	Male	35-40	-	#
Plovdiv (Bulgaria)	15 th -16 th c.	-	Cemetery	1	Brick in the mouth, tile on the skull	1	-	-	-	#
Lazzaretto Nuovo (Italy)	16 th c.	2006	Cemetery	1	Brick in the mouth	1	Female	<60	Plague	(11) (22)
Kamien Pomorski (Polish)	16 th c.	2014	Cemetery	1	Fracturation of anterior teeth, stone in the mouth, stake driven through left leg	1	-	-	-	#
Nessebar (Bulgaria)	17 th c.	-	-	1	Chest perforated by a dagger	1	Male	-	-	#
Veliko Turnovo (Bulgaria)	18 th c.	2012	Cemetery	1	Cadaver perforated with iron pins, attached feet	1	Male	Around 30	-	#
“JB-55” Connecticut	18 th -19 th c.	1990	Familial cemetery	1	The skull and femora arranged in a “skull and crossbones” orientation on top of his ribs and vertebrae	1	Male	50-55	Tuberculosis?	(23-24)
Ano Halikas, Taxiarchis Myrintzou(Lesbos, Greek)	18 th -19 th c.	1999	Cist grave	-	Spikes through the neck, pelvis and ankle.	-	Male	<60	Facial deformity	(15)
Gliwice (Polish)	Modern period	2013	Cemetery	4	Skull between the legs, stones on the skull	4	-	-	Cholera	(25) (26) (27)
Drawsko (Polish)				3	Iron sickles places around their throats. Stones placed on the throat	3				#
Site of Mell II Co. Louth (Ireland)			Cemetery	2	Stones placed over the body	2	-	-		(19)

Bogovej (Denmark)			Cemetery	Jawbone appears to have been detached and broken in half. Two stones on the pelvis and his left armand iron knife struck in the ground by the man's right foot	2	Female Male		(28)
Trekroner-Grydehoj (Denmark)			Cemetery	Covered with that of a horse and by her feet was a dog that had been cut in half. Pit covered by stones	1	Female		(28)

CORDE D., LAQUAY L., AUGIAS A., POUPON J., DEWITTE J.M., CHARLIER P. Un cas de fœtotomie, La Tène (399-303 av. J.-C.), Cagny (14). *5^e Colloque International de Pathographie* 2013 : 21-31.

CORDE D.⁽¹⁾, LAQUAY L.⁽²⁾, AUGIAS A.⁽²⁾, POUPON J.^{(2),(3)},
DEWITTE J.-M.⁽⁴⁾, CHARLIER P.⁽²⁾

UN CAS ANCIEN DE FOETOTOMIE LA TÈNE (399-303 av. J.-C.) CAGNY (14)

Introduction

Dans le cadre d'une fouille d'archéologie préventive menée par Gabrielle Lamerant de l'Inrap et Dominique Corde pour la partie anthropologique sur la commune de Cagny (Calvados), les restes d'un fœtus humain ont été mis au jour dans la couche sommitale d'un fossé d'enclos daté de l'Age du Fer (Corde D, 2014). Dans ce fossé orienté sud-ouest/nord-ouest perçu à environ 0,90 m sous la surface actuelle, deux autres sépultures ont été mises au jour : un immature de 4 ans et demi (Schour J, Massler M., 1944) situé à proximité des restes du fœtus et, à une vingtaine de mètre, le corps d'une femme âgée qui semble t-il a subi une amputation d'une partie du pied gauche (sépulture 26 (Corde. D., 2014)). Cette découverte fortuite du fœtus a été faite lors du dégagement manuel de la sépulture primaire de l'enfant située à une distance de moins d'un mètre et au même niveau altimétrique. Une datation au ¹⁴C a été effectuée sur les restes du fœtus, correspondant à 2270 +/- 30 BP, soit 399-303 cal. av. J.-C. (période de La Tène ancienne, B1-B2). Bien qu'une partie des os ait été perturbée par un outil de fouille, les observations taphonomiques ont permis de caractériser des cohérences anatomiques au niveau du thorax, ainsi que l'absence d'une grande partie du corps. Le reste du défunt semblait être néanmoins déposé en décubitus dorsal. De ces observations taphonomiques, il est exclu qu'un outil agricole (herse), un fouisseur carnivore (sanglier) ou une décomposition accentuée par l'acidité du sol aient pu être à l'origine de la disparition du reste du corps. Les premières observations biologiques succinctes de terrain ont permis de poser l'hypothèse de possibles traces de sections osseuses, qui ont conduit à un examen anthropologique et médico-légal complet des restes (Fig. 1).

(1) INRAP, Centre archéologique de Bourguébus, 4 Boulevard de l'Europe, 14540 Bourguébus

(2) Equipe d'anthropologie médicale et médico-légale (UVSQ, Université Paris Descartes EA4569, AP-HP, CASH de Nanterre), 2, avenue de la source de la Bièvre, 78180 Montigny-Le-Bretonneux

(3) Laboratoire de toxicologie biologique, CHU Lariboisière (APHP), 2, rue Amboise Paré, 75015, Paris

(4) CHRU de Lille, Laboratoire de parasitologie, 2, avenue Oscar Lambret, 59037, Lille

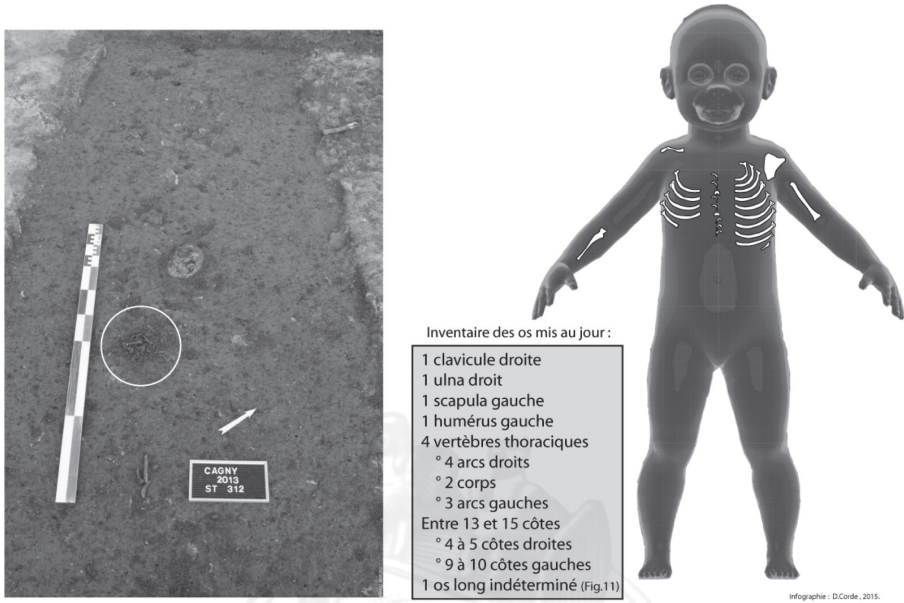


Fig. 1 : Vue en plongée du crâne de l'immature et du dépôt foetal

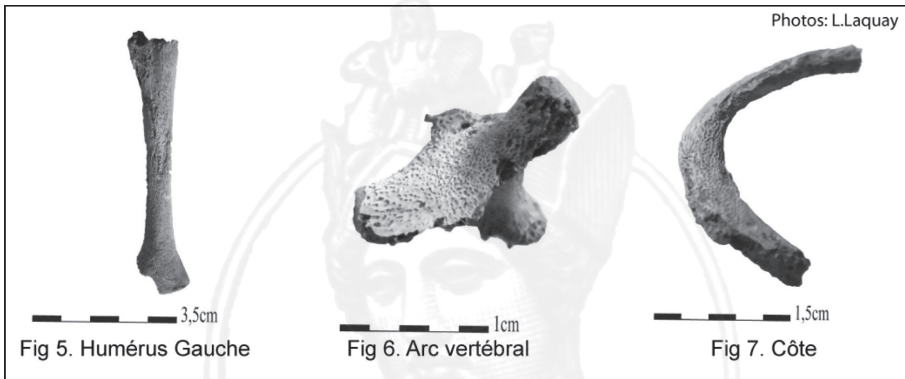
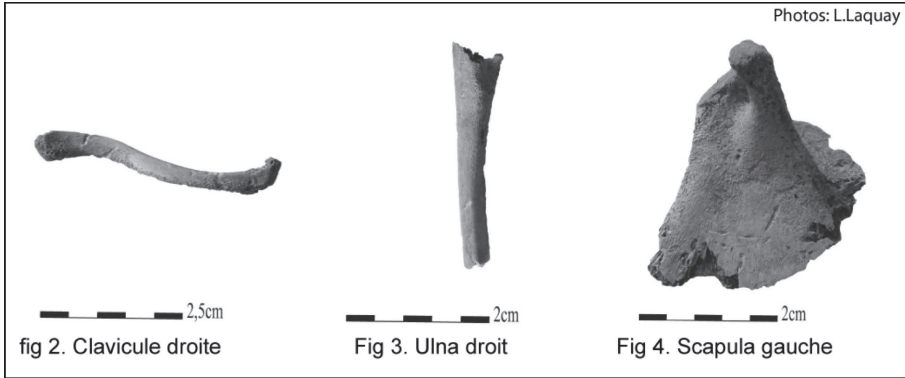
Anthropométrie

La clavicule, l'humérus ainsi que la scapula, dont les extrémités et bords étaient visibles, ont été mesurés. L'âge a ensuite été confirmé d'après une comparaison avec l'ouvrage de référence de Maureen Schaefer, Sue Black et Louise Scheuer, *Juvenile Osteology : A Laboratory an Field Manual* (2009).

Ainsi voici nos estimations pour chacun de ces trois os :

- L'humérus mesurant 66,5 millimètres :
 - Fazekas et Kóza (1978) : 40 semaines *in utero*
 - Scheuer et *al.* (1980) : $39,15 \pm 2,33$ semaines *in utero*
- La scapula mesurant 28,5 millimètres sur toute la longueur de son épine et 25 millimètres sur sa largeur :
 - Fazekas et Kóza (1978) : entre 36 et 38 semaines *in utero*
- La clavicule mesurant 47 millimètres :
 - Fazekas et Kóza (1978) : supérieur à 40 semaines *in utero*
 - Black et Scheuer (1996) : naissance à 6 mois

Toutes ces données anthropométriques, correspondant aux normes moyennes d'un fœtus à terme, semblent confirmer un décès en fin de grossesse. Cette estimation d'âge réalisée après le lavage des os et l'observation en laboratoire, rejoint les estimations effectuées sur lieu de fouille par notre collègue Dominique Corde, soit 36-37 semaines d'aménorrhée.



Données pathologiques

Le nettoyage minutieux des ossements a permis de caractériser des appositions périostées sur tous les os du fœtus (Fig. 2-7). Ces appositions sont des réponses prolifératives du périoste sur la surface de l'os alors qu'il se trouve dans un état inflammatoire, la corticale apparaît alors criblée. Plusieurs affections peuvent en être à l'origine : périostites, ostéites, ostéomyélites, etc. L'origine de ces lésions, pouvant être d'ordre génétique, virale ou infectieuse, nous ramène à l'état de santé de la mère dont nous n'avons aucun vestige. En tout état de cause, ce type d'atteinte conduit le plus souvent au décès périnatal, comme dans le cas de ce nouveau-né du 1^{er} millénaire ap. J.-C. (Alduc-Le Bagousse A., Blondiaux J., 2002).

Des analyses complémentaires ont été menées dans l'espoir de trouver des indices pathologiques et de confirmer les causes de décès ou de complications au moment de l'accouchement. Ces analyses n'ont malheureusement fourni aucune information contributive. Ainsi, des échantillons prélevés sur les sédiments directement en contact avec les os du crâne, du thorax (côtes et vertèbres) et dans le sédi-

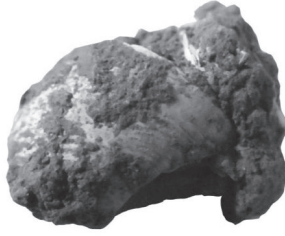


Fig. 8 : *Thanatophile de type Hélix*

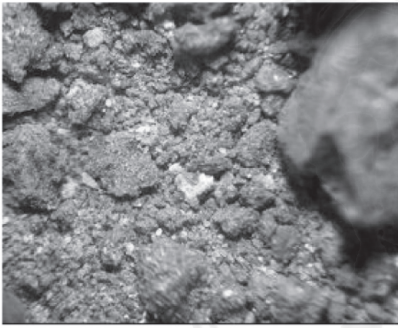


Fig. 9 : *Pot en verre. Aspect général*
(x 20)

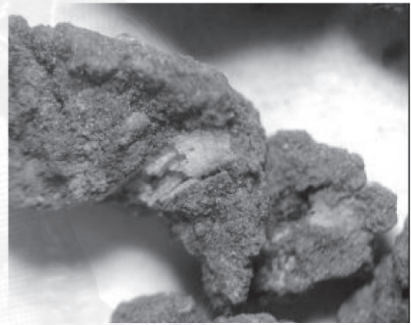


Fig. 10 : *Pot en verre. Bloc* (x 20)



Fig. 11 : *Microtube. Aspect général*
(x 20)



Fig. 12 : *Microtube. Fragments osseux*
(x 20)

ment non nettoyé d'un thanatophile de type *Helix* (Fig. 8) ont fait l'objet d'une étude parasitologique. Après réhydratation et fixation à l'aide de formol à 10%, l'examen des différents sédiments s'est fait au microscope (x100 et x400). Toutes les observations se ressemblent et laissent apparaître des éléments type « cristal » d'aspect minéral, et aucun élément parasitaire (œuf) n'a été observé.

Des échantillons de même provenance ont été l'objet de dosages élémentaires et toxicologiques (Fig. 9-12). Les échantillons ont été pesés puis partiellement mis en solution par l'acide nitrique à chaud (ce type de mise en solution ne dissout pas la silice et les silicates qui restent présents sous forme de résidus après minéralisation). Ces résidus insolubles ont été séchés et pesés, permettant de calculer le poids de la fraction soluble dans HNO₃. Une recherche semi-quantitative de tous les éléments a été effectuée par spectrométrie de masse en plasma induit (ICP-MS) sur un Elan DRCe (Perkin Elmer) en utilisant le mode TotalQuant. Les résultats, exprimés en µg/g de poids total sont présentés dans le tableau. Ces analyses n'ont malheureusement donné que la confirmation d'éléments osseux infra-millimétriques très vraisemblablement dissous dans les sédiments jouxtant le squelette. Toutefois, un fort taux de fer a également été observé.

Na	56	192	188	3 347
Mg	848	4 142	2 686	759
Al	2 248	10 407	4 099	476
Si	532	768	1 749	251
P	837	2 684	978	104 669
K	284	1 326	533	293
Ca	10 212	89 264	191 203	214 819
Cr	7	36	21	13
Mn	162	875	412	293
Fe	5 591	27 406	14 392	3 164
Co	3	16	6	1
Ni	9	58	30	8
Cu	11	36	25	172
Zn	19	83	33	465
Sr	15	128	218	215
Ba	17	90	28	90
Pb	4	17	6	15

Concentration des principaux éléments détectés rapportés au poids total de l'échantillon (en µg/g). Les 3 colonnes de gauche correspondent à des échantillons de sédiments, la colonne de droite correspond à un échantillon d'os lavé.

Embryotomie

Outre les appositions périostées observées dont l'origine pathologique est difficile à déterminer, des traces de découpe ont été mises en évidence au niveau de l'extrémité distale diaphysaire de l'ulna et de ce qui semblerait être un radius

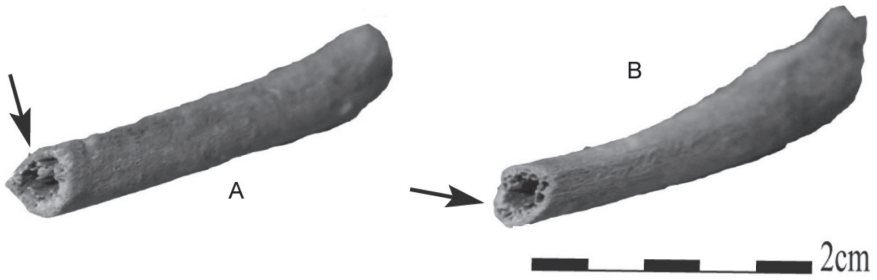


Fig. 13 : Traces de découpe sur l'os indéterminé (*Radius*?) et sur l'*ulna* (B).



Fig. 14 : *Ex-voto* de souabe montrant les restes dépecés par le chirurgien (1759)



Photo D.Corde. Source : Faculté de médecine de Marseille

Fig. 15 : *Perforateur* de Budin (début du 20^e siècle)

(Fig. 13). Ces lésions ne semblent explicables que par la réalisation d'une section d'origine anthropique qui, dans ce contexte obstétrical, correspond à une embryotomie : opération qui a pour objet de diviser, de broyer ou d'arracher certaines parties du corps fœtal *in utero*, dans le but d'en réduire le volume et de favoriser ainsi la terminaison de l'accouchement par les voies basses.

La description de cette intervention est bien documentée et abondante dans les traités de médecine et les encyclopédies des sciences médicales entre le XVIII^e et XX^e. Potocki en 1888 lui consacra un exposé complet et détaillé dans lequel il établit le manuel opératoire de l'embryotomie suite à sa thèse de doctorat en 1888 (Potocki 1888). Cette appellation générique de l'embryotomie, différente selon les auteurs et les opérateurs, présente une finalité commune, celle de mutiler le fœtus pour favoriser l'extraction de ses parties dans le but de sauver la mère. La légitimité de cette opération sur un fœtus mort *in utero* ne trouve pas de détracteur, sauf lorsque cette intervention est confrontée au choix de sacrifier l'enfant vivant au profit de la mère. Proscrite pendant de nombreux siècles cette pratique a fini par se réintroduire progressivement dans les pratiques contemporaines.

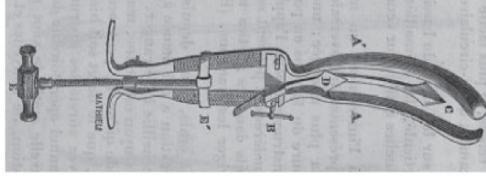
En pratique, les sources écrites nous ramènent souvent à la souffrance de la mère pendant le travail de l'accouchement mettant sa vie en péril. L'étroitesse du bassin, le mauvais positionnement du fœtus et de ses membres sont les raisons les plus souvent avancées conduisant à la foetotomie. Que l'enfant soit mort *in utero* ou vivant, la problématique de l'expulsion reste identique. La pratique consistait à introduire un embryotome dans l'utérus de la mère afin de réduire ou d'écraser la tête du fœtus lorsque celle-ci était accessible (Fig. 14).

Le processus est décrit dans ces termes dans la collection hippocratique (traduction Littré, 1853) : « D'abord mettez un linge autour de la femme, nouez-le au-dessus des mamelles, et jetez-le sur la tête de la patiente, afin qu'elle ne s'effraye pas, voyant ce que vous allez faire. Si le fœtus se présentant de côté, sort le bras, saisissez ce bras, tirez-le au dehors autant que vous pourrez, dépouillez-le de ses chairs, mettez l'os à nu et attachez autour de deux doigts de la main une peau de chien de mer afin que la chair ne glisse pas ; cela fait, dépouillez de chair l'épaule et désarticulez-la ; puis repoussant la tête du fœtus dans la position naturelle, amenez-le au dehors ; avec le doigt on repousse le fœtus en dedans ; sinon, on pratique avec le bistouri aux côtes ou à la clavicule un pertuis afin que l'air s'échappe, que l'enfant s'affaisse et que l'issue en soit plus facile. Quant à la tête, si vous pouvez la faire sortir naturellement, c'est bien ; sinon, vous l'écraserez, et vous amènerez ainsi le fœtus. »

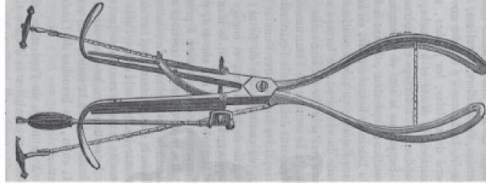
Plus tard, Celse (7, 29) suggère une division par la section du cou et des racines de membres. Soranos d'Ephèse décrit l'embryotomie et les instruments utilisés : un premier appareil sert à forcer l'ouverture de la matrice, puis un scalpel sert à entamer les chairs de l'enfant afin de permettre la dislocation et l'extraction en utilisant un crochet émoussé, enfin, un *embryosphacte*, faux, perce l'artère carotide. Cette description est reprise par le père de l'Eglise Tertullien (*De anima*) qui, s'il condamne la pratique, reconnaît sa malheureuse nécessité.

Illustrations: (Jaccoud, Sigismond François, 1870)

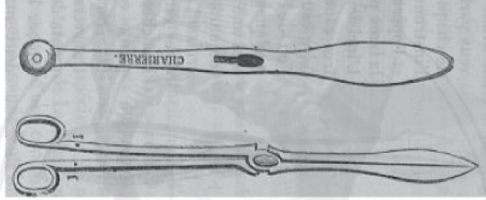
Céphalotribe de Valette



Forceps scie de van Huevel



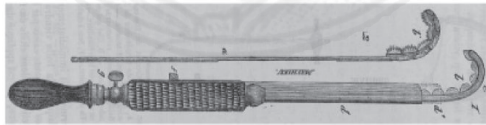
Ciseaux de Smelie



Crochet de Tarnier



Embryotome de Jacquemier



Porte lace de Tarnier

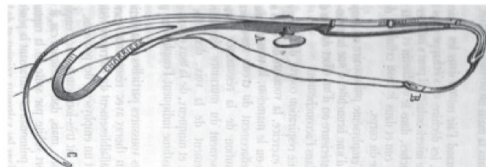
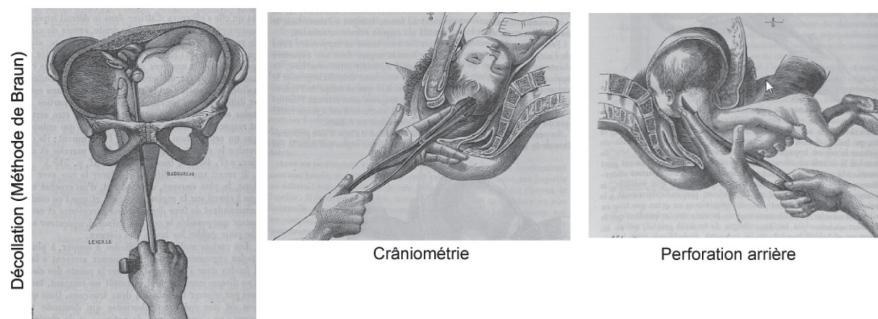


Fig. 16 : Embryotomes



Illustrations: (Jaccoud, Sigismond François, 1870)

Fig. 17 : Crâniométrie

Les outils chirurgicaux utilisés entre le XVIII^e et XX^e, bien qu'ils soient plus ou moins similaires selon les praticiens, sont le plus souvent usinés à leur demande et portent le nom de leurs inventeurs : perforateur de Budin (Fig. 15), de Blot, embryotome et basiotripe de Tarnier, de Jacquemier, de Ribemont, forceps de Demelin, de van Huevel, de Palot, ciseaux de Smelie, de Naegele, céphalotribe de Pajot, de Baudelocque, de Cazeaux, de Valette, crânioclaste de Simpson, crochet de Braun, de Tarnier, de Stanesco, etc. Cette gamme d'embryotomes étant seulement l'un des nombreux outils du trousseau du praticien spécialisé (Fig. 16-17).

Selon les récits, pourvu que l'outil soit équipé d'un manche et que sa terminaison soit en pointe, il fera l'affaire. Cette manœuvre avait pour objet d'extraire les matières molles du crâne (céphalotomie), aidée parfois par l'introduction d'une sonde pour en favoriser l'évacuation grâce à l'injection d'eau tiède. Un autre outil est mentionné, le porte-lance de Tarnier, équipé d'un fil de fer raccordé à un forceps permet de guillotiner au niveau du rachis cervical. L'utilisation de crochets munis parfois de lames tranchantes est mentionnée dans ces pratiques (Potocki, 1898), ayant pour objet de rapprocher, de maintenir par les orbites ou la mandibule, ou encore de faciliter la découpe des parties anatomiques. L'utilisation de ces crochets est décrite comme dangereuse, risquant de perforer la paroi abdominale de la mère. A cette dernière étape vient la détroncation à l'aide de ciseaux massifs et puissants. Au XVIII^e siècle, Angélique du Coudray² décrit des embryotomies par séparation de la tête, utilisation de crochets ou de cuillères à pot pour faire sortir les morceaux. De même, l'insistance à faire naître un enfant se présentant mal, par le bras ou l'épaule, aurait réduit les chirurgiens « à couper » l'enfant emprisonné par une « matrice irritée » et donc contractée.

Conclusion

Pour le foetus de Cagny, il est parfaitement envisageable, au regard des os examinés, que le praticien se soit contenté de couper toute partie qui s'offrait exté-

rieurement à l'action du tranchant de l'instrument. Si le corps de l'adulte de sexe féminin retrouvé dans le même fossé sur le site archéologique de Cagny n'était pas la mère du fœtus, pourrait-on en déduire que la génitrice a survécu à cette accouchement dystocique ? A-t-elle était inhumée ailleurs ? Il est intéressant de noter que les fragments corporels de ce fœtus ont été déposés en contexte sépulcral, conférant à cette fosse le statut de sépulture. Mais ce corps est incomplet ; que sont devenus les autres fragments corporels de ce fœtus ? L'absence de perturbation et d'action d'animaux fouisseurs ayant été observée, les restes manquant auraient-ils pu persister dans le volume corporel maternel ?

Seuls deux autres cas anciens d'embryotomie ont été publiés dans la littérature archéo-anthropologique. Le premier daté d'environ 350 de notre ère, étudié par Yves Malinas et Danielle Gourevitch, a été mis au jour à Poundbury dans le Dorset (Angleterre) (Molleson T., Cox M. 1988, Gourevitch D., Malinas Y. 1996, Gourevitch D., 2004, Lamothe E, Sardin P, Sauvage J D., 2008). Le second, toujours en Angleterre, à Hambleden, a été mis au jour en 1912 dans une nécropole romaine et étudié en 2011 (Mays S *et al.*, 2014). Le petit squelette de Cagny correspond à un cas antérieur de plusieurs siècles à ces deux cas anglo-romains (La Tène ancienne, B1-B2).

Les appositions périostées mises en évidence sur les éléments conservés du squelette témoignent du caractère vraisemblablement pathologique du fœtus au moment de sa fragmentation *in utero*, pouvant avoir été une des origines de la dystocie, ou décès obstétrical. Au contraire du cas de Poundbury, la quantité d'os retrouvés ne nous permet pas d'avancer des hypothèses sur le déroulé de l'embryotomie ni d'un mauvais positionnement du fœtus (le fœtus pourrait être décédé pendant ou avant le travail d'accouchement).

Que l'enfant soit décédé *in utero* ou non, l'accouchement dystocique a conditionné la pratique de l'embryotomie à Cagny, qui est à ce jour le plus ancien cas obstétrique connu pour cette période (La Tène B1-B2). La conclusion de Molleson et Cox, plus tard confirmée par Gourevitch et Malinas, "the importance of this embryotomy [Poundbury] in historical terms is that it shows that Roman medical theory had been adopted in Roman Britain by the fourth century, possibly even that the native population already had the knowledge and use it" est tout particulièrement intéressante dans notre cas de Cagny, puisqu'elle nous amène à questionner les origines locales des opérations obstétriques ou les voyages d'opérateurs obstétriciens puisqu'à cette époque seuls les écrits d'Hippocrate attestent de la pratique de l'embryotomie dans la Grèce Antique.

Références bibliographiques

- Alduc-le-Bagousse A., Blondiaux J., « Mortalité maternelle et périnatalité au premier millénaire à Lisieux (Calvados, France) », *Bulletins et Mémoires de la Société d'Anthropologie de Paris*, 2002, 3-4 (14) : 295-309.
- Corde D., *Fouille et étude du gisement funéraire dans : Rapport d'opération de*

Gabrielle Lamerant. *Cagny, route de Démouville. 7000 ans d'occupation*, INRAP, 2014.

Gourevitch D., « Chirurgie obstétricale dans le monde romain : césarienne et embryotomie », in Dasen Véronique dir. *Naissance et petite enfance dans l'Antiquité*, Academic press, Fribourg-Göttingen, 2004, pp. 239-264

Gourevitch D. et Malinas Y., « Présentation de l'épaule négligée. Expertise d'un squelette de fœtus à terme découvert dans une nécropole du IV^e siècle à Poundbury (Dorset UK) », *Revue française de gynécologie et d'obstétrique*, 1996, 91 (6) : 291-333.

Hippocrate, *Œuvres complètes d'Hippocrate : traduction nouvelle avec le texte grec en regard, collationné sur les manuscrits et toutes les éditions, accompagnée d'une introduction de commentaires médicaux, de variantes et de notes philologiques, suivie d'une table générale des matières. Tome 8 / par É. Littré, J.-B. Baillière*, Paris, 1853.

Jaccoud, S. F. *Nouveau dictionnaire de médecine et de chirurgie pratiques*, J.B Baillière, Paris 1864-1886.

Lamerant G., *Rapport d'opération. Cagny (14), route de Démouville, 7000 ans d'occupation*. INRAP, 2014.

Lamothe E, Sardin P, Sauvage J D., *Les mères et la mort. Réalités et représentations*, Presses Universitaires de Bordeaux, 2008.

Littré E. (Gilbert A. Ed. Sci.), *Dictionnaire de médecine, de chirurgie, de pharmacie et des sciences qui s'y rapportent, J.-B. Baillière et Fils, Paris, 1905-1908, Fasc. 1-3 et 4-5*.

Malinas Y., Gourevitch D., « Dystocie et embryotomie dans l'antiquité », *Réalités en Gynécologie-Obstétrique*, 2000, N°56, pp. 37-40.

Mays S et al., « An Infant Femur Bearing Cut Marks from Roman Hambleden, England » *International Journal of Osteoarchaeology*, 2014, 24 : 111-115.

Méca-Vigor., « Catalogue de fournitures générales médico-chirurgicales » in *Bibliothèque numérique médic@*, 1950.

Molleson T., Cox M., A Neonate with cut bones from Poundbury Camp, 4th century AD, England. *Bull. Soc. Roy. Belge Anthropol. Préhist.* 1988, 99 : 53-59.

Morel M.F. Voir et entendre les fœtus autrefois : deux exemples. *Spirale* 2005/4 (n° 36), pp. 23-25.

Potocki J.L., « Des méthodes d'embryotomie et des présentations de l'épaule négligées. Des instruments destinés à pratiquer l'embryotomie rachidienne du professeur Tarnier (thèse de doctorat. 1888) », in *Exposé des titres et travaux scientifiques du Dr J. Potocki*, Ed Steinheil, Paris, 1888.

Schaefer M., Black S., Scheuer L., *Juvenile Osteology. A Laboratory and Field Manual*, Burlington, Elsevier, 2009.

Soranos d'Ephèse, *Maladies des femmes*. Livre IV, Texte établi, traduit et commenté par P. Burguière, D. Gourevitch, Y. Malinas, Collection des Universités de France, Les Belles Lettres, Paris, 2000.

Tertullien, *De Anima (208-211)*. Texte traduit par E.-A. de Genoude, 1852.

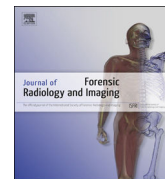
CHARLIER P., MONIER T., JACQUELINE S., AUGIAS A., HUYNH-CHARLIER I.
Technical note and forensic lessons from the past : Radiological examination of human
immature remains. *Journal of Forensic Radiology and Imaging* 2015 ; 3 : 24-28.



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Forensic Radiology and Imaging

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jofri

Short communication

Technical note and forensic lessons from the past: Radiological examination of human immature remains

Philippe Charlier^{a,*}, Thibault Monier^b, Sophie Jacqueline^a, Anaïs Augias^a,
Isabelle Huynh-Charlier^{a,c}^a Section of Medical and Forensic Anthropology, University of Health Sciences (UVSQ - Paris 5 University, AP-HP), 2 avenue de la source de la Bièvre, 78180 Montigny-Le-Bretonneux, France^b Dental School, Paris V Descartes University, 51 rue Marguerite, 94210 Saint Maur des Fossés, France^c Department of Radiology, University Hospital Pitié-Salpêtrière (AP-HP), boulevard de l'hôpital, 75013 Paris, France

ARTICLE INFO

Available online 7 February 2015

Keywords:

Postmortem

X-ray

Fetus

Mummies

Forensic anthropology

1. Introduction

In France, experimentation is considered illegal on human remains submitted to a forensic examination. As a consequence, research in forensic anthropology is currently carried out on archaeological remains with a morphology that resembles current altered remains (such as cremated bones, mummified body, and/or skeletonised corpses) [1].

The purpose of this paper is to present how the radiological examination of ancient Egyptian mummies presented as foetal or neonatal human ones may be of great interest for the forensic pathologist: how it may improve knowledge about taphonomy, i.e. post-mortem displacements and modifications. But also, as forensic practitioners are more and more requested to examine archaeological artefacts, how it may help during the inter-disciplinary authentication process.

2. Material and methods

Since the 1980s, many mummies from the Louvre Museum (Paris, France) and the National Museum of Natural History (NMNH, Paris, France) have been examined using portable radiographic devices. Radiological images were secondarily analysed by both egyptologists and medical examiners (radiologist, forensic

pathologist). This paper features 4 special cases of high interest for forensic anthropology and forensic radiology.

3. Results

Case 1 is presented as the mummy of a female baby of around 6 months (MH 24382) conserved in the NMNH, measuring 69 cm-length with a maximal width of 17.4 cm (Fig. 1a). The exact archaeological origin is unknown, but the datation can be approximate to the Ptolemaic period (3rd BC). Radiological examination showed the presence of an incomplete embalmed body with ceramic artefacts associated with the corpse (Fig. 1b). The developmental age was confirmed by the radiological examination (femoral shaft length of 12.6 cm). The skull was empty due to an excerebration, but abdominal and thoracic organs were still present and retracted within both cavities (i.e. no evisceration). All appendicular muscle masses present the classical modifications due to Egyptian embalming process, i.e. clear irregular striations related to dense and hot bitumen application on the surface of the skin. No bone dislocation is visible, as the embalming seems to have been carried out without any important delay after death.

Case 2 corresponds to the back pillar of a statue of Ptah-Sokar-Osiris (E3708/N3959) held by the Louvre Museum; it consists in a rectangular painted box measuring 29.4 × 20.5 × 10 cm³ (Fig. 2a). Its radiological examination put to light a previously unknown filling with a human foetus of 3–4 months measuring 12 cm (Fig. 2b). Medical analysis of the radiography does not

* Corresponding author. Tel. + 33 1 70 42 92 72.

E-mail address: philippe.charlier@uvsq.fr (P. Charlier).

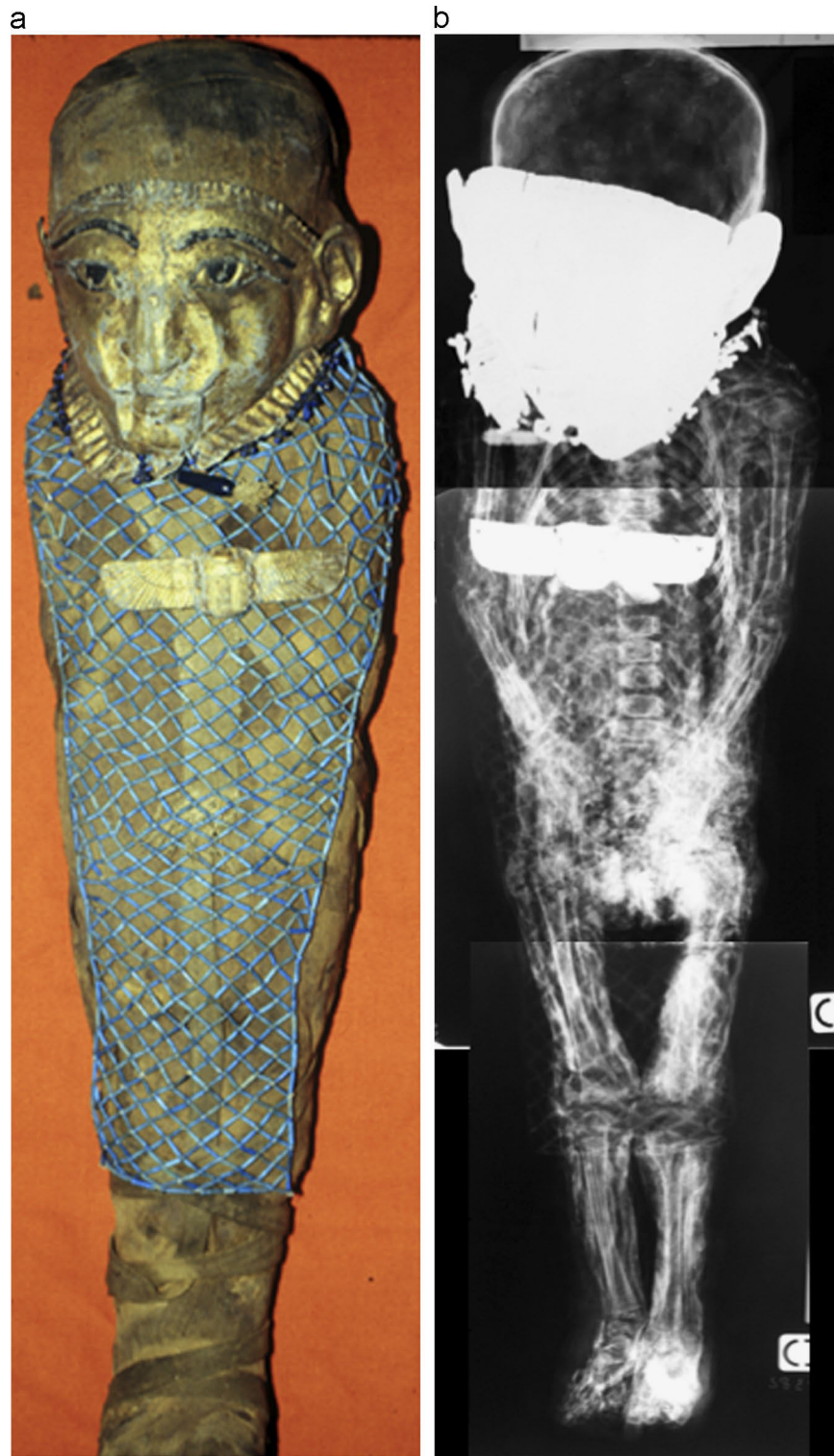


Fig. 1. Infant mummy (MH 24382), picture by T. Monier, radiography by P. Vasseur.

show any apparent malformation; the complete absence of any dislocation could be related to a kind of embalming and/or covering of the dead body with textile. The extreme visibility of the whole “skeleton” on a so premature embryo (in fact, it is rather a cartilage at this stage of development) may be explained by the embalming products increasing the density of the skeletal tissues [2].

Case 3 corresponds to an almost complete immature mummy (MH 25211) conserved by the NMNH (Fig. 3a). It is supposed to originate from the ancient city of Axoum (archaeological excavations by Lefebvre). The radiological examination put to light the presence of long and short bones from a single older child of 4–6 year-old (Fig. 3b): 2 femurs, 2 tibias, 2 fibulas and elements of a foot, without any developmental anomaly.

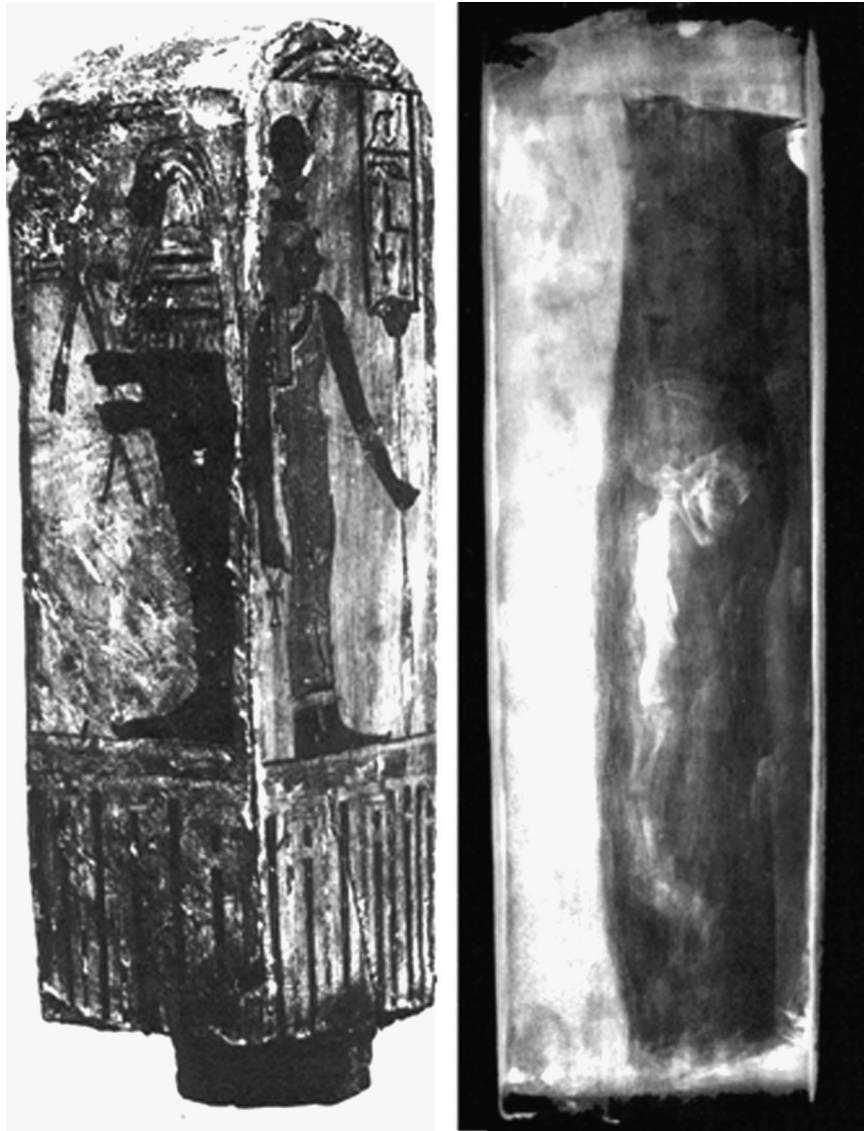


Fig. 2. Foetal mummy within a Ptah-Sokar-Osiris pillar (E3708/N3959), picture and radiography courtesy of the Louvre Museum, Paris.

Case 4 corresponds to fake foetal mummy held by the MNH (MH23664) measuring 59 cm × 19 cm, presenting as an agglomerate of antic elements whose radiography clearly shows the complete absence of any human bone material (Fig. 4). The “body” is made of what looks like plaster or terracotta broken in five parts. Two pieces of wood are fitted in the body to simulate the arms. The assembly is fully wrapped with authentic pieces of antic linen.

4. Discussion

As described in this paper, radiological examination of archaeological artefacts may reveal the presence of previously unknown immature remains (foetal or neonatal human mummy) or, on the contrary, the absence of any immature remains within supposed infant mummies.

Recent medical examination of pharaonic mummies also showed their interest in the field of forensic anthropology, as they enhance the specific knowledge of retrospective diagnoses and individual identification from human mummified remains: for example, post-mortem dislocation from two macerated and/or embalmed foetuses discovered

in the tomb of Tutankhamen [3]; the same with the discussion of cardiovascular diseases diagnoses from foetal remains [4].

But systematic examination of supposed immature remains put to light original diagnoses from both anthropological and forensic points of view: the 41-cm length “baby mummy” associated with the embalmed body of Maatkare (or Makeri), daughter of pharaoh Pinedjem I, and divine priestess of Amun (XXIth dynasty) was considered as a neonate died with the mother at the moment of the delivery (baby princess Moutemhit); but radiological examination showed the presence of a baboon mummy rather than a human one (radiology by James E Harris and Kent R Weeks in 1965). Both radiological, then direct anthropological examination of a neonatal skeleton from Speos Artemidos (EA 41603/AN33227001, XXIIth dynasty, around 850 BC) authorised the diagnosis of a case of *osteogenesis imperfecta* [5].

Other cases of fake foetal/neonatal mummies exist in private and public collections of Egyptian art: almost 40 of them have been identified only in Europe (Paris, Turin, Vatican, Venice, Florence, Vilnius, Berlin, London, Uppsala, Bristol, Stockholm, Budapest, etc.); they are all measuring from 30 to 70 cm, and may originate from England and/or Egypt. Forged by modern craftsmen by reusing fragmented original funeral material, they were created for tourists hoping to take back from Egypt easily transportable mummies.



Fig. 3. Fake foetal mummy made of authentic children bones (MH 25211), picture by T. Monier, radiography by P. Vasseur.



Fig. 4. Fake foetal mummy (MH 23664), picture by T. Monier, radiography by P. Vasseur.

References

- [1] P. Charlier (Ed.), *Ostéo-archéologie et techniques médico-légales*, De Boccard, Paris, 2008.
- [2] M. Hours (Ed.), *La vie mystérieuse des chefs-d'oeuvre. La science au service de l'art*, RMN, Paris, 1980, pp. 182–183.
- [3] P. Charlier, S. Khung-Savatovsky, I. Huynh-Charlier, Forensic and pathology remarks concerning the mummified fetuses of King Tutankhamun, *Am. J. Roentgenol.* 198 (6) (2012) W629.
- [4] P. Charlier, I. Huynh-Charlier, Difficulties for cardiovascular retrospective diagnosis on mummified foetal remains, *Cardiol. Young* 27 (2012) 1–2.
- [5] P. Gray, A case of osteogenesis imperfecta, associated with dentinogenesis imperfecta, dating from antiquity, *Clin. Radiol.* 20 (1969) 106–108.

1.2 La pathographie : l'Histoire comme patient

Une des branches de la paléopathologie est la pathographie*. Contrairement aux précédents cas d'études, ces sujets-ci ont une identité et des données (patho)biographiques relatives à leurs lésions, leurs maladies et leurs traitements, aux interventions chirurgicales et funéraires, aux causes de décès.

Les restes osseux et momifiés associés aux données écrites puis aux portraits peints et sculptés (masques funéraires, des gisants, etc.) disponibles servent de supports au diagnostic rétrospectif⁷⁰. Par le biais de superpositions photographiques, de scanners médicaux et/ou de reconstitutions faciales, l'identité de plusieurs personnages historiques a pu être confirmée, à l'instar du roi de France Henri IV (1553-1610)⁷¹, et des diagnostics rétrospectifs ont été pratiqués sur des personnalités telles que Flaubert (1821-1880)⁷² et René Descartes (1596-1650)⁷³. De plus, par l'intervention des analyses toxicologiques, l'utilisation de métaux lourds comme traitements curatifs (et parfois comme cause de mort) a pu être décelée^{74,75}. Grâce aux nombreux ouvrages laissés par les grands chirurgiens, il est possible de connaître les gestes appliqués sur les corps traumatisés. Ainsi, grâce à Ambroise Paré (1510-1590) ou Pierre Pigray (1531-1613), nous connaissons les interventions chirurgicales, pratiquées sur des combattants, mais également autopsiques et/ou d'embaumement sur les personnages royaux.

Cette démarche médico-anthropologique appliquée sur des individus identifiés permet d'apprécier différents aspects de l'Histoire, de l'anthropologie et de la médecine. Elle participe à l'amélioration des techniques d'identification (lésions taphonomiques, interventions anthropiques chirurgicales ou funéraires, diagnose sexuelle, etc.). Elle offre

⁷⁰ CHARON P. Histoire de la Paléopathologie. In : CHARLIER P. (dir), *Ostéo-archéologie et techniques médico-légales : tendances et perspectives. Pour un Manuel pratique de paléopathologie humaine*. Paris, De Boccard, 2008.

⁷¹ GABET S., CHARLIER P., PEROT J., BABELON P.P.. *Henri IV : l'énigme du roi sans tête*. Paris, Vuibert, 2013.

⁷² CHARLIER P., DEO S. Modern diagnosis of Flaubert's death mask. *The Lancet Neurology* 2017 ; 16(1) : 31.

⁷³ CHARLIER P., FROESCH P., BENMOUSSA N., FROMENT A., SHORTO R., HUYNH-CHARLIER I. Did René Descartes have a giant ethmoidal sinus osteoma? *The Lancet* 2014 ; 384 : 1348.

⁷⁴ CHARLIER P *et al.* Fatal alchemy. Did gold kill a 16th century French courtesan and favourite of Henri II, ask. *BMJ* 2009 ; 339 : 1402-1403.

⁷⁵ CHARLIER P. Qui a tué la Dame de Beauté ? Étude scientifique des restes d'Agnès Sorel (1422-1450). *Histoire des Sciences médicales* 2006 ; 40(3) : 255-263.

une meilleure compréhension et reconstitution des gestes et des traditions élitistes, lesquels par définition diffèrent de ceux du commun, que ce soit funéraire ou médical, voire une relecture des pans de l'histoire.

Il est ainsi possible de mener une double vérification des figurations historiques ; constater la justesse des portraits par comparaison avec les reconstructions médico-légales réalisées (et vice-versa : tester la justesse desdites reconstructions vis-à-vis de masques mortuaires, etc.). De plus, elle permet la vérification de la justesse des diagnostics rétrospectifs sur ces restes bien identifiés avec des données biographiques fiables : intoxication chronique, cause et circonstances de décès, traitement pris de façon quotidienne, taille, poids, lésion traumatique connue, etc.

Contrairement au travail à l'aveugle sur les corps anonymes, ces études sur restes bien identifiés offre un rétrocontrôle de qualité, c'est-à-dire d'améliorer, de développer, de valider des techniques d'identification individuelle et de diagnostic rétrospectif, au service des cas archéologiques anonymes et de futurs cas médico-légaux.

1.2.1 L'embaumement : pratique de l'élite mondiale

L'élite a toujours été empreinte de pratiques visant à marquer son rang social voire divin. Conserver l'intégrité corporelle d'un haut dignitaire, lui faire traverser le temps, au moyen d'un embaumement artificiel, fait partie de ces actes funéraires *post-mortem* élitiste bien connu et non circonscrit dans le temps et l'espace. Les connaissances liées à cette pratique résultent des écrits historiques^{76,77} et des vestiges archéologiques⁷⁸, lesquels mettent en lumière une diversité technique. Des princes chinois et des dynasties égyptiennes jusqu'aux dirigeants européens⁷⁹, chaque société a mis au point ses propres mixtures et gestes pour offrir l'immortalité physique à leurs hauts dignitaires.

Si l'embaumement est un des usages funéraires ancestraux les mieux documentés, l'emploi du bandelettage semble avoir fait l'objet de moins d'attention de la part des chercheurs, et les bandelettes ne sont pas conservées en archéologie pour des raisons taphonomiques, à l'exception des momies égyptiennes. Pourtant, cette coutume est couramment appliquée dans toutes les cours royales d'Europe et décrites dans les écrits chirurgicaux. Ainsi, concernant la cour des rois de France, les écrits de chirurgiens tels que Pierre Pigray (1531-1613) et Pierre Dionis (1643-1718) sont parmi les seules traces persistantes de cette pratique.

Les analyses biomédicales (radiographie, microscopie, toxicologie, analyse de fluorescence endogène) procurent une meilleure compréhension de ces formes de taphonomie artificielle ainsi que leur relecture.

⁷⁶ Revue britannique ou choix d'articles traduits des meilleurs écrits périodiques de la Grande-Bretagne. *Second Tome, 1844.*

⁷⁷ SUCQUET J.P. *De l'embaumement chez les anciens et chez les modernes et des conservations pour l'étude de l'anatomie.* Paris, 1872.

⁷⁸ EL-AREF N. Embalming materials for Middle Kingdom vizier Ipi rediscovered on Luxor's west bank. *Ahramonline.* 2017. [En ligne] <http://english.ahram.org.eg/News/269208.aspx>, consulté le 17.01.2017.

⁷⁹ GÉRARD-ROSAY H. De l'embaumement au soin d'hygiène et de présentation moderne: bref retour historique. *Études sur la mort* 2004 ; 1(125) : 97-104.

ZANELLO M., PALLUD J., JACQUELINE S., AUGIAS A., VARLET P., DEVAUX B., NIELSEN O., ABI HAIDAR D., CHARLIER P. Endogenous fluorescence analysis : preliminary study revealing the potential of this non-invasive method to study mummified samples. *Int J Osteoarchaeol.* 2017.

Endogenous Fluorescence Analysis: Preliminary Study Revealing the Potential of this Non-invasive Method to Study Mummified Samples

M. ZANELLO,^{a,b,c,*} J. PALLUD,^{a,b} S. JACQUELINE,^d A. AUGIAS,^d P. VARLET,^{e,b}
 B. DEVAUX,^{a,b} O. NIELSEN,^f D. ABI HAIDAR^{c,g,t} AND P. CHARLIER^{d,t}

^a Neurosurgery Department, Sainte-Anne Hospital, Paris, France

^b Paris 5 René Descartes University, Paris, France

^c IMNC Laboratory, CNRS UMR 8165, Orsay, France

^d Section of Medical and Forensic Anthropology, UFR of Health Sciences, UVSQ, EA 4569 Paris-Descartes, Montigny-le-Bretonneux, France

^e Neuropathology Department, Sainte-Anne Hospital, Paris, France

^f Museum Silkeborg, Silkeborg, Denmark

^g Paris 7 – Paris Diderot University, Paris, France

ABSTRACT

Autofluorescence analysis allows new insights on human tissue without any dye in a non-invasive way and therefore seems well suited to study historical samples. An optical set-up recorded emitted autofluorescence in 1/spectral and 2/lifetime domains from different samples' regions of interest. The studied samples were a mummified right hand, bog body (Tollund Man) feet and a male Caucasian hand (control sample). Spectral analysis revealed that mummified hand exhibited broad autofluorescence spectra, whereas Tollund Man's feet exhibited a weak single peak with 405-nm excitation wavelength. Control sample spectra are weaker than that of the mummified hand but higher than the Tollund Man's feet. Lifetime measurements indicated the presence of classical endogenous fluorophores on the mummified right hand. The Tollund Man's feet exhibited two patterns of lifetime measurements: healthy zone exhibited lifetime values at four emission wavelengths but skin lesions at only two wavelengths. This first report of mummified samples' autofluorescence analysis suggests the potential of optical analysis for archeologic research. Copyright © 2017 John Wiley & Sons, Ltd.

Key words: fluorescence; forensic science; historical samples; mummies; optical imaging; spectrum analysis

Introduction

Mummies are human remains with preservation of non-bony tissue (Lynnerup, 2007). Mummification, which is the prevention of the remaining tissue degradation, can be natural or artificial. Natural mummification happens in three main circumstances: (1) dehydration in hot and arid environments, (2) freezing in cold and arid environments and (3) acidic and anaerobic conditions specific to raised bogs. Artificial mummification needs human actions, often withdrawing of internal or-

gans and favouring dehydration with salts for instance. Mummy studies rose with Napoleon Bonaparte's Egypt campaign in 1798. Mummies, whether they are artificial mummies or natural mummies, such as bog bodies, represent a rare opportunity to obtain original data from and insights into their time and culture. Originally, mummies underwent invasive autopsy by anatomists but, quickly, mummy studies have involved multidisciplinary teams. Their efforts led to the application of modern and minimally invasive investigation methods (Monge & Rühli, 2015).

Radiology is the first applied technology (Lynnerup, 2009). Computerized tomography scan and magnetic resonance imaging can investigate bones and soft tissues with high precision but computerized tomography scan cannot provide molecular information on

* Correspondence to: Marc Zanello, Neurosurgery Department, Sainte-Anne Hospital, 1 Rue Cabanis, Paris 75014, France.

e-mail: m.zanello@ch-sainte-anne.fr

[†]These authors participated equally to this work

investigated structures magnetic resonance imaging is limited because of the lack of water in mummy samples (Gerald, 2015; Rühli, 2015). Interestingly, optical analysis has the potential to overcome these limits, in particular, endogenous fluorescence analysis. Endogenous fluorescence is produced by the excitation of fluorophores naturally present in human tissue through the illumination by a laser source: It is the emission of light by these endogenous fluorophores that have absorbed light (Croce & Bottioli, 2014). Optical endogenous fluorescence analysis has a fast acquisition time, a high resolution and is less expensive than radiological studies (Toms *et al.*, 2005). It offers different endogenous contrasts and does not require tissue preparation or contact. Through optical analysis, metabolic and morphologic data can be extracted (Zanello *et al.*, 2016). In addition, optical analysis of autofluorescence is a non-invasive and non-destructive technique, thanks to the weak power source required. These characteristics of autofluorescence analysis make the realisation of 'optical biopsies' in real time possible, which means they allow to discriminate healthy tissue from tumoral tissue (Kantelhardt *et al.*, 2016). *In vivo* medical applications of endogenous fluorescence analysis are developing: The most advanced is melanoma detection with a multicentric protocol in progress (Fink *et al.*, 2016).

Indeed, skin is easily accessible for optical analysis. It does not require the development of sterilised fibre probe, and *in vivo* imaging is not limited by movement or bleeding. Various endogenous fluorophores are present in the skin under *in vivo* conditions. Each layer of the skin contains different fluorophores: upper epidermal cells have keratin, nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) and flavin; epidermal cells close to a dermal papillary present an additional contribution of melanin; the stratum corneum has keratin and melanin, whereas the dermis signal is dominated by collagen and elastin fibres (Fereidouni *et al.*, 2014). Other fluorophores are found as porphyrin, retinol in a free or bound state, vitamin D2 or D3, lipopigments and tryptophan (Laiho *et al.*, 2005; Marcu, 2012; Roberts *et al.*, 2011). Skin optical analysis for medical purposes is under development and offers a solid scientific basis for historical sample analysis (Dimitrow *et al.*, 2009).

Despite all these advantages, optical analysis is still little used so far for mummy investigations and almost exclusively using Raman spectroscopy (Edwards *et al.*, 2007; Janko *et al.*, 2010). The aim of the present study was to perform a first bimodal optical analysis of endogenous fluorescence on specimens with different mummification techniques: artificial mummification, natural mummification and natural mummification

followed by a fixation. A dedicated optical set-up supplies two distinct optical contrasts (emission spectrum and fluorescence lifetime) from the specimens. The obtained data were compared with a control sample and to the literature in order to measure the tissue alteration produced by these different techniques and the autofluorescence variation between healthy and suspected pathological skin areas. This study is a proof of concept that endogenous fluorescence analysis can be applied on mummy samples, particularly to diagnose skin pathologies.

Materials and methods

Samples

Figure 1 represents the different studied samples. **F1**

Mummified hand

The first studied case was a human Egyptian mummified right hand. Its dimensions were 11 cm long, 6.5 cm wide and 2.8 cm high. Its general condition was good. The skin showed classical alterations. The superficial epithelial layers were impaired, peeled during cutaneous drying and manipulations of the body during both ancient and recent periods. The basal part of the epidermis and the underlying dermis persisted. The hypodermis melted, either by resorbing into deep layers or perspiring through the skin. Sex remains unknown, as no DNA was extracted from this sample. Radiocarbon dating gave a date corresponding to the Late Period (5th to 3rd century BC). Radiocarbon dating analysis was previously described (Charlier *et al.*, 2010).

Feet of the Tollund Man

The second and third studied samples were the right foot and left foot of the Tollund Man. Tollund Man was found in 1950 in Denmark. This Iron Age bog body was so well preserved that police was summoned when it was discovered. It later proved to be a precious archaeological finding: recent carbon-14 dating method estimated that Tollund Man lived between 375 and 210 BC (van der Plicht *et al.*, 2004). After the examination and autopsy of Tollund Man was completed in 1950, he was divided into several parts. His head was carefully preserved with wax, while his right foot until the 1970s was kept in a water/formaldehyde solution, then subsequently treated with polyethylene glycol and freeze dried. His left foot was left to dry (Knudsen, 1990). Dimensions: right foot, 20 cm long, 7.8 cm wide and 10.8 cm high; left foot, 18.5 cm long, 6.8 cm wide and 9.2 cm long.



Figure 1. The studied samples from top to bottom and left to right: (A) mummified hand, (B) Tollund Man's left foot, (C) Tollund Man's right foot and (D) control sample. Scale bar: 1 cm. This figure is available in colour online at wileyonlinelibrary.com/journal/oa

Control

The last studied specimen was a control sample: the hand of a 27-year-old male Caucasian.

Regions of interest

The samples' regions of interest (ROIs) were defined as macroscopic zones (at least 1×1 mm) different to the unaided eye and requiring complementary analysis. They were chosen after multidisciplinary concertation (historians, doctors and physicists). The same ROIs, identified using photographs taken during analysis, were investigated between mummified and control hands.

Optical set-up for spectroscopic and time-resolved measurements

Figure 2 represents the optical set-up used in this study and the acquisition of one ROI on mummified hand.

Further information on the set-up is published elsewhere (Abi Haidar *et al.*, 2015; Leh *et al.*, 2012). Briefly, two pulsed diode lasers were used as laser sources. One emitted at 405 nm, and the other emitted at 375 nm with a maximum power of 1 mW and a maximum power density of 3.18 W/cm^2 . Spectroscopic and time-resolved measurements were performed on the same set-up.

Spectral acquisition was accomplished for several longitudinal lines of each specimen, thanks to a motorised microtranslator stage. Spectrum represented the variation of fluorescence intensity (in arbitrary unit) in function of the wavelength (from 200 to 1000 nm). The analysis of spectrum range and peaks allowed to discriminate endogenous fluorophores present in the studied sample.

Time-resolved measurements allowed to found out which fluorophore was present in the studied sample and gave insights on the molecular conformation of the fluorophore (different time-resolved measurement

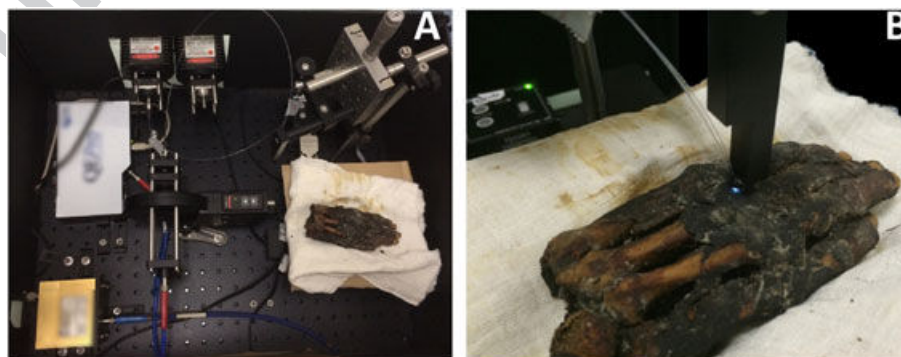


Figure 2. (A) Optical set-up used in this study and (B) acquisition of one region of interest on mummified hand. This figure is available in colour online at wileyonlinelibrary.com/journal/oa

for a molecule protein bound or free). This set-up was made to investigate on five distinct fluorophores, because there were the more informative for brain analysis. Each fluorophore had a precise filter, in order to be sure to only obtain time-resolved measurement from this fluorophore: 450 ± 10 nm for the NADH, 520 ± 10 nm for the flavin adenine dinucleotide, 550 ± 30 nm for the lipopigments and 620 ± 10 nm and 680 ± 10 nm for the porphyrins. With 405-nm excitation wavelength, we used the five filters, whereas 375-nm excitation wavelength was particularly well suited to excite NADH and flavin adenine dinucleotide so we worked only with the 450 ± 10 nm and 520 ± 10 nm filters.

Data analysis

Comparison of the mummy specimens' spectroscopic data with control sample data

Artificial and natural mummification produce very different samples. If this is obvious with gold-standard histopathology, this latter requires invasive and destructive methods (Chang *et al.*, 2006). Previous reports on mummy fluorescence did not investigate artificial and natural mummification versus a control sample. In this work, historical samples were studied in order to explore the endogenous fluorescence variation between a mummified hand, two bog body feet and a control hand.

Analysis of lifetime measurement

The data were adjusted by a mono-exponential fit via FLUOFIT software (PicoQuant, GmbH, Berlin, Germany) to recover the lifetimes from the measured fluorescence decays.

Results

Spectroscopic analysis

F3 Figure 3 shows investigated ROI emission spectra of mummified hand, Tollund Man's left foot, Tollund Man's right foot and control sample with the two excitation wavelengths (405 and 375 nm).

Mummified hand

Three ROIs have been investigated: the third metacarpus (bone), distal phalanx of index finger (distal phalanx) and the mummified surface of the hand (skin). These ROIs were chosen because of mummification technic: Skin was treated but not underlying bone. More fluorescence was emitted with 405-nm excitation

wavelength compared with 375-nm excitation wavelength. With both excitation wavelength, bone was more fluorescent than distal phalanx, and distal phalanx was more fluorescent than skin. Spectra showed a peak around 600 nm.

Tollund Man's left foot

Two ROIs have been investigated: a zone without any macroscopic anomaly (healthy zone) and a zone with a dermatological lesion (a putative plantar wart). Signal was weak with both excitation wavelengths. Exploitable spectra were acquired with 405-nm excitation wavelength, but there was no exploitable signal with 375-nm excitation wavelength. At 405-nm excitation wavelength, spectra showed a peak at 700 nm. The healthy zone spectrum was broader than the spectrum emitted from the wart.

Tollund Man's right foot

This foot presented several ROI: an ancient scar (scar), two suspected warts (warts 1 and 2) and the tibia (bone). Scar produced a broader spectrum than warts with a peak around 700 nm. The two warts had quite similar spectra: wart 1 gave a weaker signal with a peak around 700 nm, and wart 2 spectrum presented two more peaks at 600 and 650 nm. Spectrum emitted from the bone had two peaks: one around 580 nm, and the other one at 700 nm.

Control sample

Two ROIs have been investigated: index nail and skin, in order to be as close as possible to the mummified hand ROI. Control sample showed stronger autofluorescence signal at 405-nm excitation wavelength that at 375-nm excitation wavelength. Skin exhibited reduced fluorescence intensity compared with index nail. The main peak was at 600 nm with broad spectra for both excitation wavelengths.

Lifetime measurements

Lifetime values are summarised in Table 1.

The mummified hand presented lifetime values for the five filters at 405-nm excitation wavelength and for the two used filters at 375-nm excitation wavelength for each ROI. Distal phalanx had the shorter lifetime values, whereas bone had the longer at 405-nm excitation wavelength. At 375-nm excitation wavelength, it was the opposite: Bones showed the shorter lifetime values, and distal phalanx showed the longer lifetime values. The best fit was obtained with a bi-exponential with the filter $550 \text{ nm} \pm 30$ for the three ROIs.

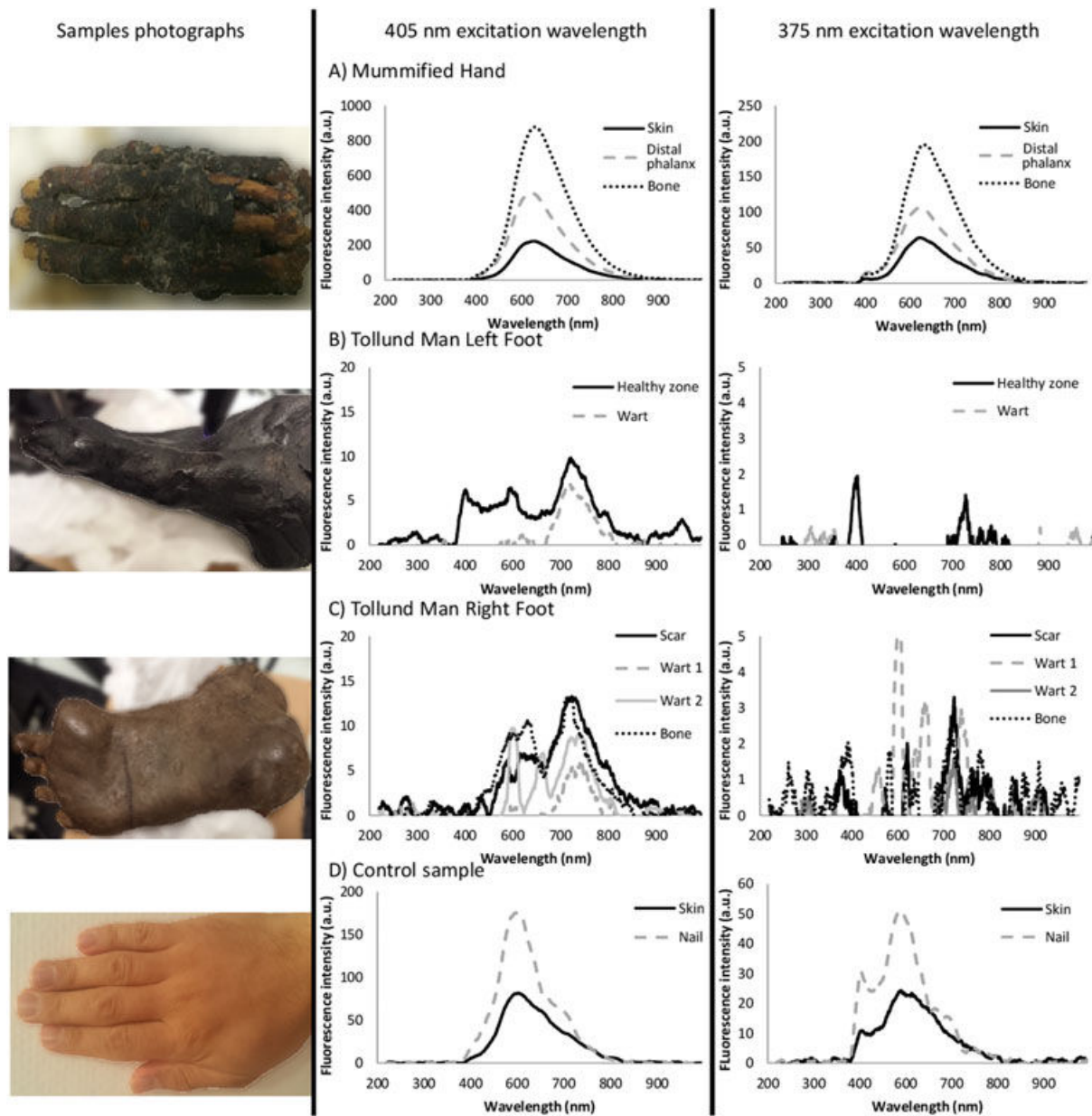


Figure 3. Emission spectra from top to bottom and left to right: (A) mummified hand on three different regions of interest (skin, distal phalanx and bone): 405- and 375-nm excitation wavelength, (B) Tollund Man's left foot on two regions of interest (macroscopic healthy zone and suspected wart): 405- and 375-nm excitation wavelength, (C) Tollund Man's right foot on four regions of interest (suspected scar, two suspected warts and bone): 405- and 375-nm excitation wavelength and (D) control sample on two regions of interest (skin and distal phalanx): Tollund Man's left foot on two regions of interest (macroscopic healthy zone and suspected wart): 405- and 375-nm excitation wavelength. This figure is available in colour online at wileyonlinelibrary.com/journal/oa

Tollund man's left foot presented two different patterns: healthy zone showed lifetime values for four filters at 405-nm excitation wavelength and for the two used filters at 375-nm excitation wavelength, while the suspected wart had only lifetime values with the filters 550 nm \pm 30 and 680 nm \pm 10.

Tollund Man's right foot exhibited the same patterns: Scar and bone had lifetime values for the five

filters at 405-nm excitation wavelength, whereas suspected warts showed only lifetime values with the filters 550 nm \pm 30 and 680 nm \pm 10.

Control sample had longer lifetime values than the three historical samples. Interestingly, two different values suggesting two distinct fluorophores were found out with the filter 550 nm \pm 30 for the nail ROI, but only one lifetime value was

Table 1. Fluorescence lifetime measurements of the samples' different regions of interest

Excitation wavelength (nm) Filter wavelength (nm) Sample Region of interest	405					375	
	450 ± 10 Lifetime value (ns)	520 ± 10 Lifetime value (ns)	550 ± 30 Lifetime value (ns)	620 ± 10 Lifetime value (ns)	680 ± 10 Lifetime value (ns)	450 ± 10 Lifetime value (ns)	520 ± 10 Lifetime value (ns)
Mummified hand							
Skin	2.51	2.46	5.30 1.72	2.55	2.40	1.65	1.96
Distal phalanx	1.62	1.93	3.84 0.97	2.10	2.01	3.62	3.66
Bone	3.30	3.34	5.53 1.58	3.48	3.51	1.61	1.90
Tollund Man's left foot							
Healthy tissue	1.11	1.17	2.50	—	1.60	1.00	0.94
Wart	—	—	2.96	—	1.55	—	—
Tollund Man's right foot							
Scar	2.08	2.1	3.56	2.00	1.47	—	—
Wart 1	—	—	2.8	—	1.35	—	—
Wart 2	—	—	2.86	—	1.60	—	—
Bone	2.31	1.98	3.22	2.06	1.61	—	—
Control							
Skin	3.51	3.62	4.90	3.13	1.88	3.10	3.17
Nail	3.70	3.70	5.40 1.80	3.30	2.50	3.50	3.50

retrieved from the skin ROI at 405-nm excitation wavelength.

Discussion

We report the first detailed analysis of the endogenous fluorescence of mummy samples. We showed that 1/ endogenous fluorescence signal of mummified hand, bog body feet and control hand were different: Control exhibited a weaker signal than mummified hand but stronger than bog body feet; 2/multimodal analysis (spectra and lifetime values) discriminated different mummification methods and seemed able to differentiate several ROIs on Tollund Man's feet.

Endogenous fluorescence analysis is mainly developed for medical oncological purposes, such as basal cell carcinoma or melanoma early diagnosis. Significant reduction in fluorescence lifetime between basal cell carcinomas and healthy boundaries has been reported (Galletly *et al.*, 2008). In another study, the fluorescence emission spectrum was the modality that allowed distinguishing healthy tissue, benign (naevus) and malignant (melanoma) lesions. Apart from the dominant peak at 470 nm, melanoma exhibited a peak at 550 nm under 760- or 800-nm excitation wavelength (Dimitrow *et al.*, 2009). Our team worked on brain tumours and showed significant differences in optical analysis between different histological subtypes of human meningioma (Zanello *et al.*, 2016).

In front of these contradictory results, it seems mandatory to use a multimodal set-up able to give several sets of data on the investigated samples. Capacity of such set-up to give a precise insight in tissue microstructure can be of great help to study mummies and mummification processes. Korean medieval mummies emitted autofluorescence signal. Residual DNA of ancient samples contributes to autofluorescence of these samples (Lim *et al.*, 2010). Another work reported emission of autofluorescence by archaeological bones with good correlation between samples preservation and autofluorescence signal (Hoke *et al.*, 2011).

The studied mummified hand emitted a strong autofluorescence signal with a peak at 600 nm with 405- and 375-nm excitation wavelengths. Consequent bone fluorescent signal is well known and preserved in ancient samples. Our results were in accordance with this assumption. Distal phalanx is covered by a nail mainly made of keratin. Even if the nail fell down because of dessication, some keratin could remain, which would explain its quite strong fluorescent signal. The skin results could be explained by the good preservation of the sample and the artificial mummification with preservation of the epidermis (Chang *et al.*, 2006). This peak at 600 nm could correspond to lipids used during mummification process (Buckley *et al.*, 1999). However, lifetime values close to the *in vivo* sample seemed to confirm the presence of classical fluorophores as NAD(P)H or flavin. Mitochondria had been described in Egyptian mummy skin (Hino *et al.*, 1982).

Contrary to the mummified hand, the two feet of Tollund Man showed a weak fluorescence signal. This is, at least in part, explained by the fact that the Tollund Man is a bog body. Natural mummification in bogs led to a worse preservation of the skin structure and components (Chang *et al.*, 2006; Lynnerup, 2015). Different body regions showed different autofluorescence signal in previous works so it could be another reason to explain this variation (Na *et al.*, 2000). The peaks observed in emission spectra could represent melanin signal, at least in part (Hrdy, 1978). Exploration of precise ROI by optical set-up could not lead to strong assessments. However, the suspected warts exhibited distinct spectra and lifetime values with great similarity between left and right foot. These data were different to that of a macroscopic scar or healthy zone, and warts exhibit specific morphologic and vascular characteristics (Veasey *et al.*, 2014). It may be possible that Tollund Man suffered from warts. Discrepancies between both signals of Tollund Man's right and left feet, broader signal at 405-nm excitation wavelength for the left foot and stronger signal at 375-nm excitation wavelength for the right foot could be explained by their different preservation (water formaldehyde for the right foot versus drying for the left foot).

Control sample exhibited a weaker signal than mummified hand. This could be explained by a greater absorption of light due to vascularisation. The main peak could be attributed to the porphyrins. The method of mummification, which can use several biological substances and possible contamination by bacteria, is another possible explanation of this result (Charlier *et al.*, 2013). Broad spectra are in accordance with previous results (Zeng *et al.*, 1995). Lifetime values correspond to that of bound NADH, flavin, lipopigment and porphyrin and seem to confirm the presence of these fluorophores in human skin (Berezin & Achilefu, 2010; Marcu, 2012).

The main limit of this study was the weak number of analysed samples. Another limit was the use of excitation wavelength not totally suited to mummy analysis, and it seems that lower excitation wavelength will be helpful to investigate collagen and elastin (Marcu *et al.*, 2014).

Mummy studies have become more precise and less invasive during the 20th century. Various techniques are still under test to further improve the accuracy of these studies (Buckley *et al.*, 1999; Öhrström *et al.*, 2015). This work demonstrates the potential of autofluorescence analysis to study ancient samples, in particular for the differential diagnosis of skin alterations or lesions in mummified remains. Further studies are needed to explore the full potential of this promising, real-time and non-invasive method.

References

- Berezin MY, Achilefu S. 2010. Fluorescence lifetime measurements and biological imaging. *Chemical Reviews* **110**: 2641–2684. DOI:10.1021/cr900343z.
- Buckley SA, Stott AW, Evershed RP. 1999. Studies of organic residues from ancient Egyptian mummies using high temperature-gas chromatography-mass spectrometry and sequential thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry and pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry. *The Analyst* **124**: 443–452.
- Chang BS *et al.* 2006. Preserved skin structure of a recently found fifteenth-century mummy in Daejeon, Korea. *Journal of Anatomy* **209**: 671–680. DOI:10.1111/j.1469-7580.2006.00607.x.
- Charlier P *et al.* 2010. The 'relics of Joan of Arc': a forensic multidisciplinary analysis. *Forensic Science International* **194**: e9–15. DOI:10.1016/j.forsciint.2009.09.006.
- Charlier P *et al.* 2013. The embalmed heart of Richard the Lionheart (1199 A.D.): a biological and anthropological analysis. *Scientific Reports* **3**: 1296. DOI:10.1038/srep01296.
- Croce AC, Bottiroli G. 2014. Autofluorescence spectroscopy and imaging: a tool for biomedical research and diagnosis. *European Journal of Histochemistry* **58**. DOI:10.4081/ejh.2014.2461.
- Dimitrow E, Riemann I, Ehlers A, Koehler MJ, Norgauer J, Elsner P, König K, Kaatz M. 2009. Spectral fluorescence lifetime detection and selective melanin imaging by multiphoton laser tomography for melanoma diagnosis. *Experimental Dermatology* **18**: 509–515. DOI:10.1111/j.1600-0625.2008.00815.x.
- Edwards HGM, Currie KJ, Ali HRH, Jorge Villar SE, David AR, Denton J. 2007. Raman spectroscopy of natron: shedding light on ancient Egyptian mummification. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **388**: 683–689. DOI:10.1007/s00216-007-1249-4.
- Fereidouni F, Bader AN, Colonna A, Gerritsen HC. 2014. Phasor analysis of multiphoton spectral images distinguishes autofluorescence components of *in vivo* human skin. *Journal of Biophotonics* **7**: 589–596. DOI:10.1002/jbio.201200244.
- Fink C, Hofmann M, Jagoda A, Spaenkuch I, Forschner A, Tampouri I, Lomberg D, Leupold D, Garbe C, Haenssle HA. 2016. Study protocol for a prospective, non-controlled, multicentre clinical study to evaluate the diagnostic accuracy of a stepwise two-photon excited melanin fluorescence in pigmented lesions suspicious for melanoma (FLIMMA study). *BMJ Open* **6**. DOI:10.1136/bmjopen-2016-012730.e012730
- Galletly NP *et al.* 2008. Fluorescence lifetime imaging distinguishes basal cell carcinoma from surrounding uninvolved skin. *The British Journal of Dermatology* **159**: 152–161. DOI:10.1111/j.1365-2133.2008.08577.x.
- Gerald C. 2015. Considered limitations and possible applications of computed tomography in mummy research. *Anatomical Record (Hoboken, N.J.: 2007)* **298**: 1088–1098. DOI:10.1002/ar.23151.


- Hino H, Ammitzbøll T, Møller R, Asboe-Hansen G. 1982. Ultrastructure of skin and hair of an Egyptian mummy. Transmission and scanning electron microscopic observations. *Journal of Cutaneous Pathology* 9: 25–32.
- Hoke N, Burger J, Weber C, Benecke N, Grupe G, Harbeck M. 2011. Estimating the chance of success of archaeometric analyses of bone: UV-induced bone fluorescence compared to histological screening. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 310: 23–31. DOI:10.1016/j.palaeo.2011.03.021.
- Hrdy DB. 1978. Analysis of hair samples of mummies from Semma South (Sudanese Nubia). *American Journal of Physical Anthropology* 49: 277–282. DOI:10.1002/ajpa.1330490217.
- Janko M, Zink A, Giggler AM, Heckl WM, Stark RW. 2010. Nanostructure and mechanics of mummified type I collagen from the 5300-year-old Tyrolean Iceman. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 277: 2301–2309. DOI:10.1098/rspb.2010.0377.
- Kantelhardt SR, Kalasauskas D, König K, Kim E, Weinigel M, Uchugonova A, Giese A. 2016. *In vivo* multiphoton tomography and fluorescence lifetime imaging of human brain tumor tissue. *Journal of Neuro-Oncology*. DOI:10.1007/s11060-016-2062-8.
- Knuden LR. 1990. Conservation of the Tollund-Man. *Leather Conservation* 6: 1–6.
- Laiho LH, Pelet S, Hanczewicz TM, Kaplan PD, So PTC. 2005. Two-photon 3-D mapping of *ex vivo* human skin endogenous fluorescence species based on fluorescence emission spectra. *Journal of Biomedical Optics* 10: 24016. DOI:10.1117/1.1891370.
- Lim D-S, Oh CS, Lee SJ, Shin DH. 2010. Auto-fluorescence emitted from the cell residues preserved in human tissues of medieval Korean mummies. *Journal of Anatomy* 217: 67–75. DOI:10.1111/j.1469-7580.2010.01240.x.
- Lynnerup N. 2007. Mummies. *American Journal of Physical Anthropology Suppl* 45: 162–190. DOI:10.1002/ajpa.20728.
- Lynnerup N. 2009. Methods in mummy research. *Anthropologischer Anzeiger, Bericht Über Die Biologisch-Anthropologische Literatur* 67: 357–384.
- Lynnerup N. 2015. Bog bodies. *Anatomical Record (Hoboken, N.J.: 2007)* 298: 1007–1012. DOI:10.1002/ar.23138.
- Marcu L. 2012. Fluorescence lifetime techniques in medical applications. *Annals of Biomedical Engineering* 40: 304–331. DOI:10.1007/s10439-011-0495-y.
- Q8 Marcu L, French PMW, Elson DS. 2014. *Fluorescence Lifetime Spectroscopy and Imaging: Principles and Applications in Biomedical Diagnostics*. CRC Press, Boca Raton.
- Monge JM, Rühli F. 2015. The anatomy of the mummy: *mortui viventes docent* – when ancient mummies speak to modern doctors. *Anatomical Record (Hoboken, N.J.: 2007)* 298: 935–940. DOI:10.1002/ar.23129.
- Na R, Stender I-M, Ma L, Wulf HC. 2000. Autofluorescence spectrum of skin: component bands and body site variations. *Skin research and technology: official journal of International Society for Bioengineering and the Skin (ISBS) [and] International Society for Digital Imaging of Skin (ISDIS) [and] International Society for Skin Imaging (ISSI)* 6: 112–117.
- Öhrström L, Fischer BM, Bitzer A, Wallauer J, Walther M, Rühli F. 2015. Terahertz imaging modalities of ancient Egyptian mummified objects and of a naturally mummified rat. *Anatomical Record (Hoboken, N.J.: 2007)* 298: 1135–1143. DOI:10.1002/ar.23143.
- Roberts MS, Dancik Y, Prow TW, Thorling CA, Lin LL, Grice JE, Robertson TA, König K, Becker W. 2011. Non-invasive imaging of skin physiology and percutaneous penetration using fluorescence spectral and lifetime imaging with multiphoton and confocal microscopy. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics: Official Journal of Arbeitsgemeinschaft Für Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V* 77: 469–488. DOI:10.1016/j.ejpb.2010.12.023.
- Rühli FJ. 2015. Short review: magnetic resonance imaging of ancient mummies. *Anatomical Record (Hoboken, N.J.: 2007)* 298: 1111–1115. DOI:10.1002/ar.23150.
- Toms SA, Lin W-C, Weil RJ, Johnson MD, Jansen ED, Mahadevan-Jansen A. 2005. Intraoperative optical spectroscopy identifies infiltrating glioma margins with high sensitivity. *Neurosurgery* 57: 382–391. DOI:10.1227/01.NEU.000176855.39826.2D.
- van der Plicht J, van der Sanden WAB, Aerts AT, Streurman HJ. 2004. Dating bog bodies by means of ¹⁴C-AMS. *Journal of Archaeological Science* 31: 471–491. DOI:10.1016/j.jas.2003.09.012.
- Veasey JV, Framil VM, Nadal SR, Marta AC, Lellis RF. 2014. Genital warts: comparing clinical findings to dermatoscopic aspects, *in vivo* reflectance confocal features and histopathologic exam. *Anais Brasileiros de Dermatologia* 89: 137–140. DOI:10.1590/abd1806-4841.20141917.
- Zanello M et al. 2016. Multimodal optical analysis of meningioma and comparison with histopathology. *Journal of Biophotonics*. DOI:10.1002/jbio.201500251.
- Zeng H, MacAulay C, McLean DI, Palcic B. 1995. Spectroscopic and microscopic characteristics of human skin autofluorescence emission. *Photochemistry and Photobiology* 61: 639–645.

Haidar D, Leh B, Zanello M, Siebert R. 2015. Spectral and lifetime domain measurements of rat brain tumors. *Biomedical Optics Express* 6: 1219–1233. DOI: 10.1364/BOE.6.001219

B, Siebert R, Hamzeh H, Menard L, Duval M-A, Charon Y, Abi Haidar D. 2012. Optical phantoms with variable properties and metrics for diffuse and fluorescence optical spectroscopy. *Journal of Biomedical Optics* 17: 108001. DOI: 10.1117/1.JBO.17.10

CHARLIER P., POUPON J., JEANNEL G.F., FAVIER D., POPESCU S.M., AUGIAS A., HUYNH-CHARLIER I., LAQUAY L., BOUDOUMA O., DORION-PEYRONNET C. The embalming of John of Lancaster, first Duke of Bedford (1435 AD) : A forensic analysis. *Med Sci Law* 2015 : 1-9.

The embalming of John of Lancaster, first Duke of Bedford (1435 AD): A forensic analysis

Medicine, Science and the Law
0(0) 1–9
© The Author(s) 2015
Reprints and permissions:
sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav
DOI: 10.1177/0025802415587318
msl.sagepub.com


P Charlier¹, J Poupon², GF Jeannel³, D Favier³, SM Popescu⁴, A Augias¹, I Huynh-Charlier⁵, L Laquay¹, O Boudouma⁶ and C Dorion-Peyronnet⁷

Abstract

During the Middle Ages and Renaissance, embalming the cadaver of the elite was common practice, being a highly technical treatment mixing vegetal and mineral substances. To assess the exact kind of embalming reserved for the dead body (with the practical necessities of desiccation and good odour), we performed a full biomedical analysis of the mummified remains of John Plantagenet of Lancaster, first Duke of Bedford, regent of France for his nephew, the English King Henri VI (died 1435 AD). Here, we show, among other aspects, that the body was embalmed using substances whose origins were in apothecary and botany: mercury, myrtle, mint, frankincense, lime and, possibly, cinnamon and copper.

Keywords

Forensic anthropology, identification, history of medicine, status of the cadaver, microscopy, palynology, elemental analyses, toxicology, SEM, embalming

Introduction

John Plantagenet of Lancaster, first Duke of Bedford (Figure 1), was the third surviving son of King Henry IV of England by Mary de Bohun. Born on 20 June 1389, and brother of the King Henry V, he acted as regent of France for his nephew, King Henry VI. Bedford had been Governor in Normandy between 1422 and 1432 where the University of Caen was created under his auspices. He defeated the French several times, most notably at the Battle of Verneuil, until the arrival of Joan of Arc rallied the opposition. In 1431, Bedford had Joan tried and executed at Rouen, then arranged a coronation for the young Henry VI at Paris.¹ He died suddenly on 14 September 1435 during the Congress of Arras at his castle of Joyeux Repos in Rouen, and was buried on 30 September 1435 at Rouen Cathedral (where he had been received as a canon in 1430).^{2,3} Calvinists mutilated the black marble monument in 1562 during the French Wars of Religion, and the rest of the monument was destroyed entirely in 1734–1736, although the coffin remained intact in the ground until its discovery by the abbot Cochet on 19 October 1866.^{4,5}

The lead coffin, east–west oriented, was discovered 95 cm under the 1736 pavement. It was 1–2 mm thick (thinner at the foot than at the head), 20–25 cm high,

and 20–25 cm round. It had been previously conserved in a 3–4 cm thick oak coffin, according to nails discovered during the excavations. The lead coffin was already open because of the pressure of the ground on its upper part, from the head to the knee. A chemist examined the laminated lead coffin upon discovery, and found that it comprised 97% lead, 1.62% tin, 1.38% iron and zinc. The body was lying on its back, both hands crossed on the abdomen. Its was excellently preserved, due to a 2 cm thick blackish

¹Section of Medical and Forensic Anthropology, UFR of Health Sciences (UVSQ), France

²Department of Biological Toxicology, University Lariboisière Hospital, France

³International Flavors and Fragrances, France

⁴GeoBioStratData.Consulting, France

⁵Department of Radiology, University Hospital Pitié-Salpêtrière, France

⁶Institut des Sciences de la Terre de Paris, Pierre et Marie Curie University, France

⁷Departmental Museum of Antiquities, France

Corresponding author:

Philippe Charlier, Section of Medical and Forensic Anthropology, UFR of Health Sciences (UVSQ/AP-HP/EA 4569 Paris-Descartes University/CASH Nanterre), 2 Avenue de la source de la Bièvre, Montigny-le-Bretonneux, 78180, France.

Email: philippe.charlier@uvsq.fr



Figure 1. John, Duke of Bedford (left), as seen on a contemporary miniature (British Library, London, MS 18850, f°256v).

crust covering the whole cadaver. No metal was present inside the coffin. A white textile (identified as linen) was filed on the body, forming a cross. After careful examination, the whole body was placed back into its original coffin, and samples of the blackish embalming substance were separately conserved for further analyses.^{4,5}

According to common medieval practices, embalming occurred after death, but no historical chronicle mentions any segmentation of the cadaver (*dilaceratio corporis*), a practice that was widespread among the aristocracy at that time.⁶ The fully embalmed body was inhumed 16 days after death at the Cathédrale Notre-Dame in Rouen (capital of the English occupation of Normandy territories in that period).

Just after the remains were discovered, samples of the hairs and embalming substance were conserved in a sealed crystal box (2.2 cm × 8.4 cm × 5.4 cm), now conserved at the Departmental Archaeological Museum in Rouen (N° Inv. 1172.1). A second sealed crystal box (N° Inv. 1172.2), containing some lead fragments and an altered sheet of silk from the same grave, has not been sampled. At the end of the archaeological excavations, the rest of the body was conserved at its original place.⁵

In order to understand better the context of the death and post-mortem treatment of the dead body, we submitted samples of the embalmed material to a complete biomedical analysis (chemistry, palynology, microscopy, etc.). Following the wishes of cultural authorities, for whom the authenticity of the remains



Figure 2. Actual aspect of the crystal box containing samples of the cadaver of John, Duke of Bedford (N° Inv. 1172.1; picture by Yohann Deslandes, Departmental Museum of Antiquities © Department of Seine-Maritime).

was anything but dubious, no genetic analysis was carried out because of the very limited quantity of the remains. ¹⁴C dating was not performed because of contamination of the sample by the presence of balm, oil and organic embalming residues, and successive solvent extractions would have been impossible on such a tiny quantity of material.

Materials and methods

We sampled this highly fragmented mummified material in 2012 (a total of 2 g from an amount of almost 50 g, now conserved in a crystal box; Figure 2). The protocol was comparable to that of the remains of the heart of Richard the Lionheart conserved at the same museum.^{7,8}

A preliminary macroscopic examination completed with binocular lenses (magnification ×20 and ×40) was carried out. Further analyses were then performed, as detailed below.

A palynological analysis was performed on only one available sample made of 0.5 g of the black powder prepared as follows. First, an attack by KOH 5% was carried out without heating in order to destroy vegetal tissues without affecting pollen grains. After centrifugation and rinsing, the final dried residue was diluted within glycerol, and 50 μL of the residue was placed between a slide and cover glass. The slide was examined completely with an optical microscope (×250) and provided a total of 108 pollen grains (Table 1). Each pollen grain was observed at a magnification of ×1000 in order to examine its morphology and identification in details. A pollen study was performed using a ZEISS SUPRA 55 VP scanning electron microscope (SEM-FEG-GEMINI field emission column), allowing a spatial resolution down to 1.0 nm. Topographic images (secondary electron images) were realised using the InLens and Everhart-Thornley SEM detectors.

Table 1. Results of palynological analyses on the sample of the mummified remains of the Duke of Bedford.

Identified taxa (family, genus and species when possible)	Number of pollen grains	Period of pollination of referred plants	Present-day geographic distribution of referred plants
<i>Onopordum</i> and <i>Serratula</i> , Asteraceae Asteroideae	49	May to June	<i>O. acanthium</i> and <i>S. tinctoria</i> , blooming from June to September and July to September, respectively. In the past, the latter was intensively used by dyers to make a yellow dye.
<i>Artemisia</i> genus, Asteraceae	36	September and October	Among the species living in north-west France (<i>Artemisia absinthium</i> , <i>A. vulgaris</i> , <i>A. campestris</i> , <i>A. maritima</i> and <i>A. gallica</i>), <i>A. maritima</i> shows a pollen with many similarities with those recorded within the heart (thick ectexine and endexine, large columellae).
Lamiaceae, <i>Mentha</i> (mint)	11	July to October	This stephanocolpate pollen, specific of Lamiaceae, shows an ornamentation of exine similar to that of <i>Mentha</i> (mint) which displays several species living in northern France such as <i>M. rotundifolia</i> (strong and rather unpleasant smelling plant), <i>M. silvestris</i> (sweet and rather pleasant smelling plant), <i>M. aquatica</i> (strong-smelling plant), <i>M. arvensis</i> (strong-smelling plant) and <i>M. pulegium</i> (very strong-smelling plant). Present pollen grains of four of these species have been observed and pollen morphology allows two species to be selected: <i>M. aquatica</i> and <i>M. arvensis</i> .
<i>Centaurea</i>	1	June to October	Five species (<i>C. pratensis</i> , <i>C. nigra</i> , <i>C. scabiosa</i> , <i>C. amara</i> and <i>C. jacea</i>) inhabit north-west France.
Asteraceae Cichorioideae	1	–	This typical pollen, fenestrate, cannot be identified within this large subfamily.
<i>Myrtus communis</i> , Myrtaceae	1	May to July	This morphologically unique pollen belongs to the sweet-smelling plant <i>Myrtus communis</i> (myrtle), endemic of the Mediterranean region.
Apiaceae	3	–	These pollen grains, characteristic of Apiaceae, cannot be identified at the genus level because of the large morphological homogeneity of this widely distributed family.
Poaceae	2	–	These pollen grains cannot be more precisely identified within this large family, abundantly distributed in north-west France.
<i>Plantago</i>	1	–	
Brassicaceae	1	–	
Rosaceae	1		Pollen grains of the rich and widely distributed family of Rosaceae are rarely identified at the genus level.

Note: One pollen grain poorly preserved could not be identified.

Pollen grains were identified mainly by referring to the personal bank of modern pollen grains (pollen slides and photographs) of one of the authors (S.M.P.) and to botanical atlases.^{9–11} Information on plant systematic, distribution and flowering refers to European and North African flora.¹²

An analysis of elements was performed on a small sample (2.4 mg) of the black powder using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS; Elan DRCe Quadrupole Spectrometer; Perkin Elmer, Les Ulis, France) and inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES; JY 24; Horiba Jobin Yvon, Longjumeau, France). For both techniques, samples were first mineralised with hot concentrated nitric acid (nitric acid 65% Suprapur®; VWR, Fontenay-sous-Bois, France) and completed with ultrapure water (MilliQ®; Millipore, Molsheim,

France) to obtain a final volume of 0.5 mL. In order to detect elements of interest, a fast semi-quantitative analysis of all elements in the periodic table was carried out using the ICP-MS TotalQuant method. Nine elements were thereafter quantitatively measured: Pb, Sn, Sb, Cu, Bi and Hg by ICP-MS, and Fe, Ca and Al by ICP-OES.¹³

A molecular analysis was also carried out on two samples of the black powder. Solid-phase microextraction (SPME) was used to trap organic volatile compounds from the samples, and gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) analysis was carried out in order to identify them. Samples were also placed directly in a glass liner into the injector of the chromatograph, and organic components were directly desorbed at 300°C for five minutes (GC/MS Agilent 6890 fitted with the Mass Spectrometer 5973

mounted with an adapted purge and trap technique; Gerstel® Combipal with the CIS4 injector).

Results

Preliminary examination under binocular lenses showed the presence of tiny remains of translucent brown formations (Figure 3), and a diffuse powder made of a blackish substance corresponding to the mummified viscera mixed with the embalming crust (Figure 4). No remains of any textiles were identified.

The optical and scanning electron microscopic (SEM) analysis showed the presence of various pollen grains (Table 1 and Figures 5 and 6). Three pollen types were prevalent (often grouped, suggesting the presence of stamens or flowers): an Asteraceae Asteroideae, *Onopordum* or *Serratula* (45% of pollen total, $n=49$), *Artemisia* (33%) and a Lamiaceae,

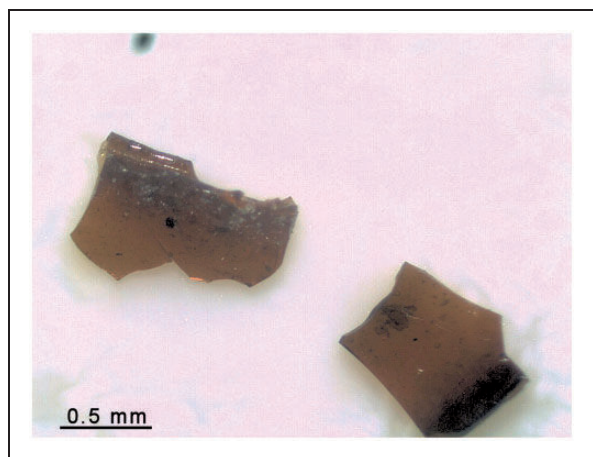


Figure 3. Close view of the semi-transparent dark formations associated with the mummified remains of John, Duke of Bedford, under binocular lenses, at $\times 40$ magnification (picture by Joël Poupon).



Figure 4. Close view of the mummified remains of John, Duke of Bedford, under binocular lenses, at magnification $\times 20$ (picture by Joël Poupon).

Mentha (10%). The residue also included masses of vegetal tissues (cuticles with stomatae) and spores of fungi. The most abundant pollen grains come from plants (at their systematic level of identification), which are found in Normandy and which were blooming at the time of death of the Duke of Bedford (autumn); they illustrate the regional coastal meadows. Some of them are fragrant plants (mint, myrtle, rose?). Calcium carbonate (or its roasted/heated form, calcium oxide, i.e. lime) was also used during the embalming process, as supported by the presence of some calcareous coccoliths. No bacteria or parasite was identified.

Elemental analyses revealed large amounts of mercury, iron, calcium and lead (Table 2). Calcium may have been added during the embalming process, as the very slight amount of associated aluminium would eliminate an environmental origin (i.e. soil contamination).¹³ Indeed, lime (calcium oxide or hydroxide) is known as a disinfectant and desiccant,¹⁴ and such properties justify its use during embalming, in association with other products, including plants. Its use for embalming the Duke of Bedford has already been suggested by Le Roy.¹⁵

SPME analyses did not result in any pertinent information. Traces of monoterpenes were found, mainly limonene. The direct desorption of the sample permitted the identification of triterpenoid compounds with ursane and oleanane structure (Figure 7). From these compounds, α - and β -boswellic acids were identified. These molecules are characteristic of natural gum resins from the *Burseraceae* family, and specifically α - and β -boswellic acids characterise olibanum resin (frankincense).¹⁶ Olibanum resin from Somalia has been analysed, confirming this hypothesis (reference material from Kremer Pigmente n°60270, *gummi olibanum somalia* nr. 1, weihrauch). Fatty acids were also found, mainly palmitic acid and oleic acid. These compounds occur in vegetable oils. In addition, several phenolic derivative compounds were detected, mainly guaiacol and 2,6-dimethoxy phenol derivatives, indicating the use of a wood-tar product. Eugenol and vanillin were also been detected, in direct relationship with, respectively, the use of specific plants during the embalming process (cinnamon, nutmeg or clove) and the decomposition process.¹⁷

Discussion

The elemental analyses of the blackish powder found a huge quantity of lead, obviously originating from the coffin, explaining also the presence of tin and antimony, classically found in poorly purified lead from the Medieval and Renaissance periods.¹⁸ The origin of iron and copper is questionable, as testimonies of the exhumation mention that no metallic object was present in contact with the body. Nevertheless, iron could reasonably be attributed to

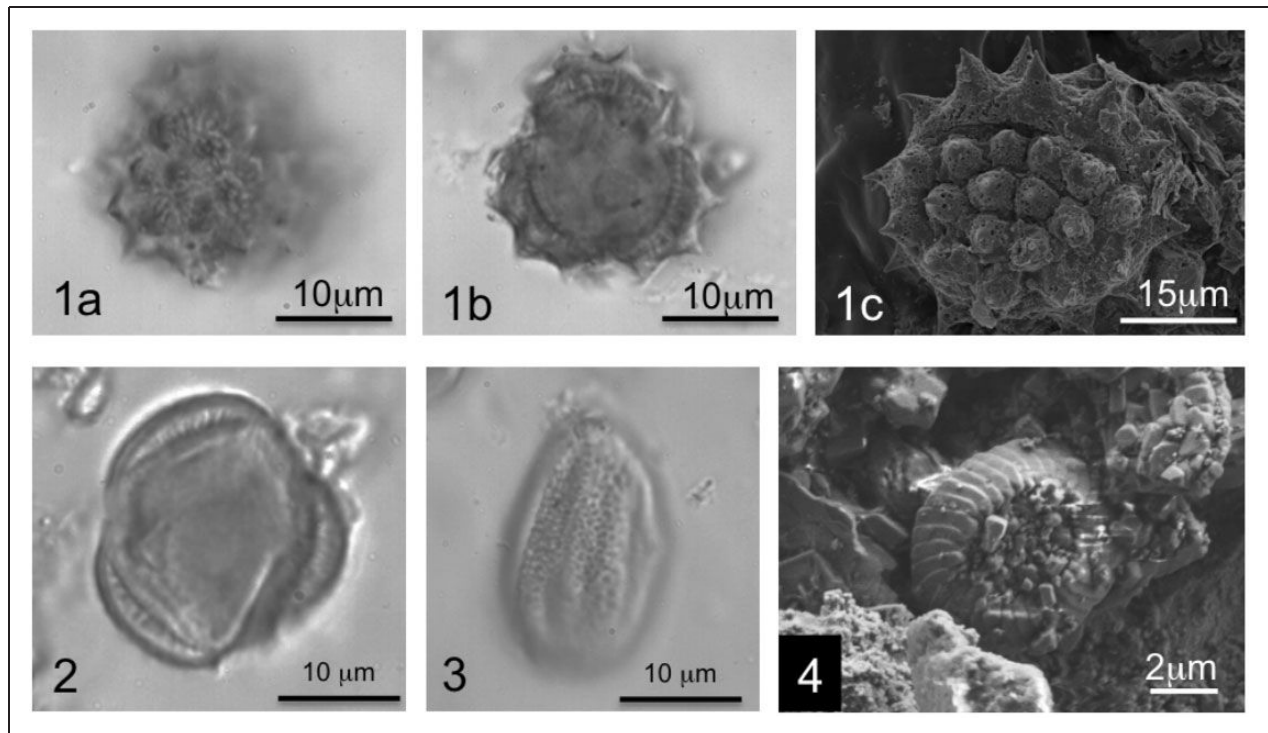


Figure 5. 1a–f, *Myrtus communis*; 2a–e, *Mentha* sp.; 3, Rosaceae (pictures by Speranta-Maria Popescu and Omar Boudouma).

iron nails used for the oak coffin and found at the first opening.⁵ For copper, no such use is known, although the presence of a copper plate cannot be ruled out. Copper may also have been added during the embalming process, since its conservative properties were known in this period.¹⁴

Mercury is attested in embalming both in the literature and in Medieval and Renaissance mummification practices. Mercury was found in the composition of the embalming substance of Richard the Lionheart's heart (1199 AD).⁷ Even if the amount found was considerably less than observed in the rest of the Duke of Bedford (150 µg/g vs. 3122 µg/g), it indicates the use of a mercury compound such as mercury chloride (calomel), and cannot be considered as originating from lead impurities, as it is never found in ancient lead.^{15,18} Other examples of the use of 'vif argent' during the embalming processes are given by Guglielmo of Saliceto in his *Chirurgia* (c. 1275), and the French surgeons Henri de Mondeville (*La chirurgie* of Henri de Mondeville, 1306–1320) and Guy de Chauliac (*La grande chirurgie*, 1363) who refer to the use of 'quicksilver' in the post-mortem treatment of bodies. Mercury was also found (and macroscopically identified because of mercury droplets and further chemical analyses) in the burials of the French King Charles VII (died 1461) and the French Queen Anne de Bretagne (died 1514) in the St Denis basilica.¹⁹

In 1866, at the first opening of the grave of the Duke of Bedford, metallic mercury was found in great quantities and could be identified by simple physical separation.²⁰ It represented 11.25% of the

mass, that is, 112,500 mg/g, and non-metallic mercury was not determined.⁵ In his official report made to Cochet, Girardin, who did the analysis, thought that mercury was surely used as a mercury compound, but, in absence of chloride and sulphate, Girardin thought that neither mercuric chloride nor mercuric sulphate were used. He suggested, but as he confessed without any proof, that mercury oxide could have been employed combined with a resin. This mercury oxide would have been further reduced by the organic matter to produce elemental mercury. Curiously, a few years later, Girardin wrote that the presence of mercury could only be explained by the use of 'sublimé corrosif', which means mercuric chloride. Fifty-two years later, a new and more complete analysis performed by Le Roy showed that total mercury represented 8.03% (80,300 mg/g) of the solid mass, and metallic mercury only 4.08% (40,800 mg/g), the rest (3.85% or 38,500 mg/g) being in a combined form.¹⁵ Then, more than 50 years later, 36% of the metallic mercury had disappeared, even if we cannot exclude a great heterogeneity of the samples analyses by the two chemists. Indeed, we confirmed that chlorides and sulphates were present only at the trace level. After several in vitro experiments, Le Roy concluded that mercury must have been employed as an emulsion of metallic mercury in a balsamic-like substance. Our analysis shows that, today, metallic mercury is no longer present, and total mercury represents only 0.3% of the black powder.

Pollen grains recorded in the blackish powder may originate from embalming products and/or airborne contamination. The interpretation of such results

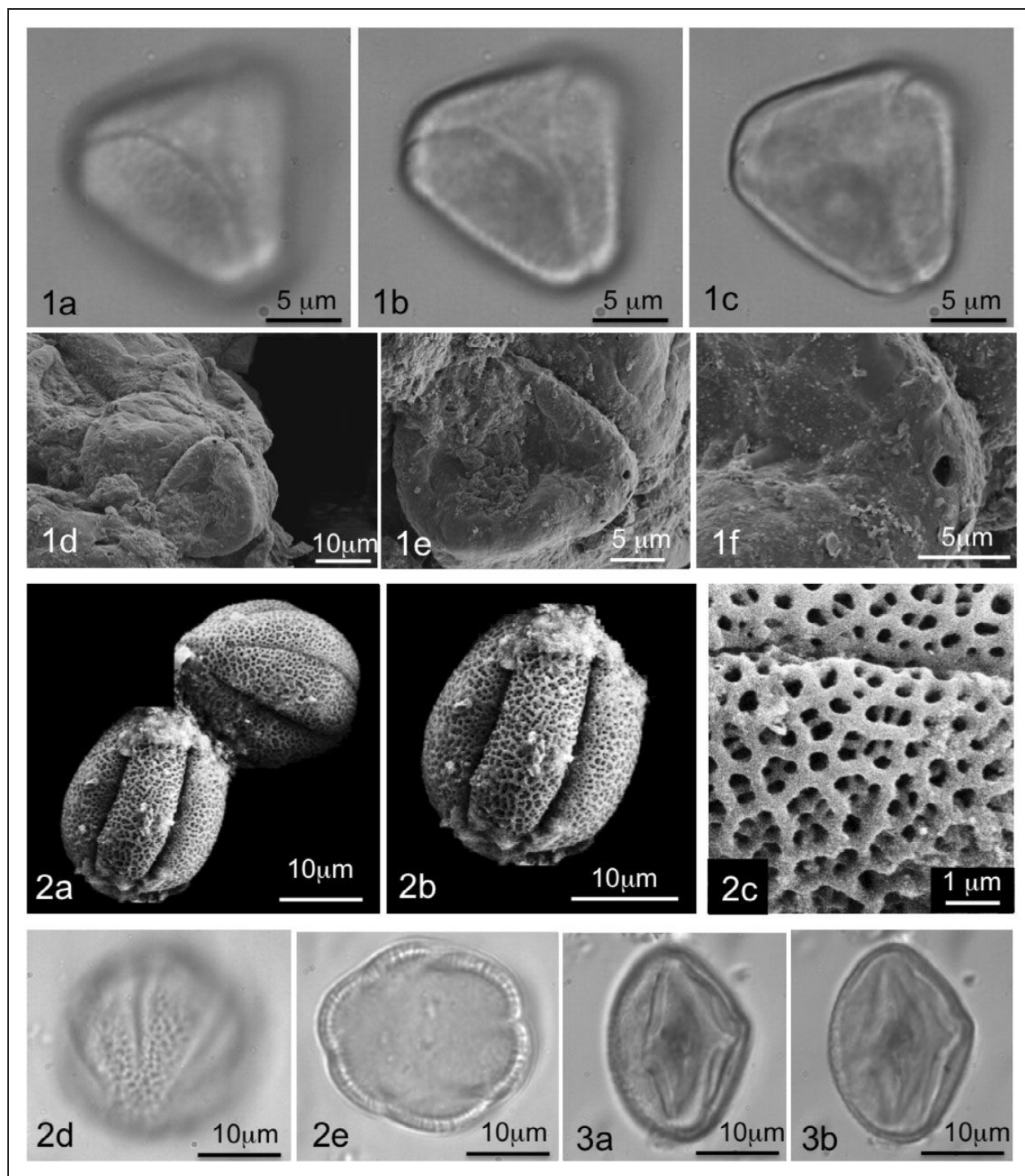


Figure 6. 1a–c, Asteraceae Asteroideae; 2, *Artemisia*; 3, Brassicaceae; Calcareous coccolith *Cyclagelosphaera* (pictures by Speranta-Maria Popescu and Omar Boudouma).

Table 2. Results of elemental analyses on the sample from the body of the Duke of Bedford.

Sample	Weight (mg)	Pb (μg/g)	Sn (μg/g)	Sb (μg/g)	Cu (μg/g)	Bi (μg/g)	Hg (μg/g)	Fe (μg/g)	Ca (μg/g)	Al (μg/g)
Black powder	2.42	1411	641	97	488	4	3122	8595	31,318	36
Semi-transparent elements	1.32	2942	173	6	19,203	5	70	345	8663	ND

ND: Not determined.

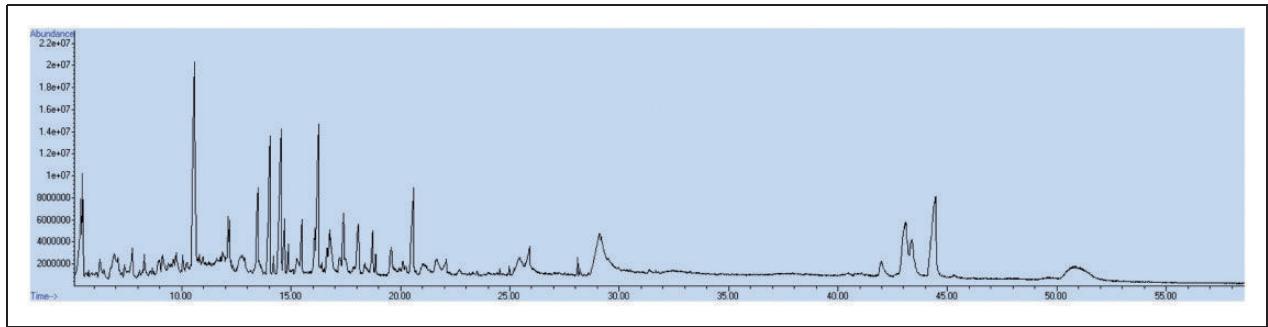


Figure 7. Chromatogram from the direct desorption of the sample from the remains of the Duke of Bedford.

needs a comparison with Medieval and Renaissance literature about plants and vegetable substances used during the embalming process, but also with the period and localisation of the preparation of the cadaver of the Duke of Bedford (September, region of Rouen, Normandy). Some pollen grains must undoubtedly be considered as originating from embalming products (myrtle, mint, rose?), whose pollination ends at the period of death. They also may have been stored before their use during the embalming process (that occurred short after 14 September 1435).^{9–12} It is noteworthy that their state of preservation is better than the other recorded pollen grains (Table 1): *Artemisia*, *Apiaceae*, *Poaceae*, *Centaurea*, and *Plantago*. That may indicate some transportation by air and the resulting oxidation. They are hence considered as contaminated external material, excluding their use for the embalming process. The identification of Asteraceae Asteroideae (*Onopordum* and *Serratula* genera) may be explained by the tinctorial properties of one of the species, *S. tinctoria*, intensively used by dyers in this period to make a yellow dye.

Molecular analyses showed the presence of frankincense (likely corresponding to the translucent formations observed under binocular lenses),¹⁶ that is, a non-negligible part of the embalming processes during the Medieval and Renaissance periods.²¹ Indeed, gum resins are symbolic substances linked to the birth and death of Christ: presented by the Biblical Magi at his birth and used during his external embalming after the Passion.²² The goal of using such materials was not only to allow long-term conservation of the tissue, but also to leave the body with a good odour, like the body of Christ,²³ as previously shown in the case of the mummified heart of Richard the Lionheart.⁷ Comparable examples from later periods (13th–19th centuries) have been described, particularly in Italy: Cangrande della Scala (1291–1329),^{24,25} members of the Medici family in Florence,²⁶ the Aragonese mummies in San Domenico Maggiore, Naples,^{27,28} the Blessed Christine of Spoleto (1432–1458),²⁹ Salimbene Capacci (1433–1497) and his wife Margherita Sozzini (died in 1511),²¹ late Medieval and Renaissance Saints,³⁰ and in the treatise *La practica*

in arte chirurgica copiosa by Giovanni da Vigo (1450–1525). Comparable substances and plants known as filling materials of these mummies have been described (mint, rose powder, myrtle, etc.), but the case of the Duke of Bedford may represent the most complex example of the embalming process (associating seawater, lime, mercury, copper, various flowers and frankincense). The identified coccolithes are *Cyclagelosphaera*, that is, 174 to 61 millions year-old fossil, originating from the calcium carbonate or lime used for the embalming process. From a geological point of view, Rouen is located in the occidental part of the Seine basin, a zone rich in very thick layers of chalk used for the production of lime.

Since the studied samples were entirely turned into powder, the original presentation of the embalmed body has been ignored, but testimonies dating from the period of the exhumation report that the fully mummified body was wholly covered by a 2 cm blackish crust, including dark hairs on the head.^{4,5}

In any case, the embalming described above seems to have been only an external one, as no description of any opening or partitioning of the body is attested in the case of the Duke of Bedford (i.e. no secondary graves for the viscera and/or the heart).^{31–34} Traditionally, the embalming process was carried out by cooks (12th century AD), as they were used to preparing meat and offal but also had access to herbs, spices and other odoriferous substances.^{6,35} Then, post-mortem preparation was executed by barbers, surgeons, apothecaries and, later, chemists, using plants; sometimes exotic and disinfectant solutions proved to be efficient for the medium- and long-term conservation of human cadavers.³⁶

Unlike the Egyptian embalming process where the conservation of the body was considered an elite status marker, embalming in this case was necessary for practical reasons rather than religious or symbolic ones. The full body was treated because the Duke's cadaver had to wait 16 days (14–30 September) before its inhumation in the cathedral. The body, even if not directly visible, had to conserve a stable aspect, without any odor or liquefaction during official presentations. As previously seen in the case of the English King Richard the Lionheart, it is equally possible that the post-mortem treatment of the organs

(and particularly the heart), inspired by biblical spices, was necessary in order to accelerate (or at least to help) his religious apotheosis. Indeed, with embalming, symbolically, the deceased was identified with Christ, whose body was scented with spices by Joseph of Arimathea before being placed in his tomb.⁷

Funding

This research received no specific grant from any funding agency in the public, commercial or not-for-profit sectors.

Declaration of conflicting interests

All authors declare no competing financial interest relevant to the subject of this research.

References

- Weir A. *The Wars of the Roses: Lancaster and York*. London: Ballantine, 1996.
- Deville A. *Tombeaux de Rouen*. Rouen: Periaux, 1831, p.168.
- Dom Pommeraye. *Histoire de l'église cathédrale de Rouen*. Rouen, 1686.
- Abbé Cochet. Note sur la découverte et la visite du tombeau de Bedford à la Cathédrale de Rouen en octobre 1866. *Rev Soc Sav Départements* 1867; 5: 551–559.
- Abbé Cochet. *Notice sur la découverte et la visite du tombeau de Bedford à la Cathédrale de Rouen en octobre 1866*. Rouen: Académie des Inscriptions et Belles Lettres de Rouen (séance du 15 février 1867), 1867, pp.151–165.
- Charlier P. Evolution of embalming methodology in medieval and modern France (Agnès Sorel, the Duc de Berry, Louis the XIth, Charlotte de Savoie). *Med Secoli* 2006; 18: 777–797.
- Charlier P, Poupon J, Jeannel GF, et al. The embalmed heart of Richard the Lionheart (1199 AD): a biological and anthropological analysis. *Sci Rep* 2013; 3: 1296.
- Charlier P. Embalmed visceral material multidisciplinary analysis. *Protoc Exch* 2013; doi:10.1038/protex.2013.042.
- Reille M. *Pollen et spores d'Europe et d'Afrique du Nord*. Marseille: Laboratoire de Botanique Historique et Palynologie, 1992.
- Reille M. *Pollen et spores d'Europe et d'Afrique du Nord. Additional issue 1*. Marseille: Laboratoire de Botanique Historique et Palynologie, 1995.
- Reille M. *Pollen et spores d'Europe et d'Afrique du Nord. Additional issue 2*. Marseille: Laboratoire de Botanique Historique et Palynologie, 1998.
- Coste H. *Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse et des contrées limitrophes*. Paris: Librairie des Sciences et des Arts, 1937.
- Poupon J and Polet C. Analyses élémentaires des restes humains: aspects nutritionnels, toxicologiques et environnementaux. In: Charlier P (ed.) *Ostéo-archéologie et techniques médico-légales*. Paris: De Boccard, 2008, pp.119–149.
- Blancou J. History of disinfection from early times until the end of the 18th century. *Rev Sci Tech* 1995; 14: 31–39.
- Le Roy GA. *Sur un mode d'embaumement mercurial à l'époque médiévale... Note présentée à l'Académie des Sciences de Paris, à la séance du 16 décembre 1918*. Paris: Gauthier-Villard, 1919.
- Culioli G, Mathe C, Archier P, et al. Caractérisation chimique d'oliban dans une résine archéologique: étude de la momie de Hekaemsaf (Saqqarah, XXVI^{ème} dyn., 570–525 av. J.-C.). In: Bernier JC, Guinot F, Mohen JP and Potier P (eds) *Art et chimie, les polymères. Proceedings of the Congress; 15 to 16 oct. 2002; Paris, France*. Paris: CNRS éditions, 2003, pp.128–131.
- Charlier P, Poupon J, Eb A, et al. The 'relics of Joan of Arc': a forensic multidisciplinary analysis. *Forensic Sci Int* 2010; 194: e9–15.
- Brown HG. *A study of lead ingot cargoes from ancient Mediterranean shipwrecks*. Master Thesis, A&M University, College Station, TX, 2011.
- Dom Druon. *Journal historique de l'extraction des cercueils de plomb des Rois, des Reines, Princes et Princesses, Abbés et autres Personnes qui avaient trouvé sépultures dans l'Eglise de l'Abbaye Royale de St Denis en France*. Paris: Archives Nationales, 1793.
- Girardin MJ. Des embaumements. In: Girardin MJ (ed.) *Leçons de chimie élémentaire appliquée aux arts industriels*. Tome 5. Paris: Masson, 1875, pp.195–196.
- Giuffra V, Fornaciari A, Marvelli S, et al. Embalming methods and plants in Renaissance Italy: two artificial mummies from Siena (central Italy). *J Archaeological Sci* 2011; 38: 1949–1956.
- Vauchez A. *Sainthood in the latter Middle Ages*. Cambridge: Cambridge University Press, 2005.
- Albert JP. *Odeurs de sainteté. La mythologie chrétienne des aromates*. Paris: EHESS, 1990.
- Fornaciari G. La mummia di Cangrande. Ipotesi sulla causa di morte. In: Marini P, Napione E and Varanini GM (eds) *Cangrande della Scala. La morte e il corredo di un principe nel Medioevo europeo*. Venice: Marsilio Editore, 2004, pp.64–65.
- Marchesini M and Marvelli S. Il contributo delle indagini palinologiche alla scoperta delle cause di morte di Cangrande della Scala, Signore di Verona (1291–1329 d.C.). *Eur J Aerobiol Envir Med* 2009; 2: 49–53.
- Fornaciari G, Giuffra V, Giusiani S, et al. Autopsy and embalming of the Medici, Grand Dukes of Florence (16th–18th centuries). In: Peña PA, Martin CR and Rodriguez AR (eds) *Mummies and Science. World Mummies Research. Proceedings of the VI World Congress on Mummy Studies; 19 to 24 feb. 2007; Lanzarote, Spain*. Santa Cruz de Tenerife: Academia Canaria de la Historia, 2008, pp.325–331.
- Fornaciari G. Italian mummies. In: Cockburn A, Cockburn E and Reyman TA (eds) *Mummies, disease and ancient cultures*. Cambridge: Cambridge University Press, 1998, pp.266–281.
- Marinozzi S and Fornaciari G. *Le mummie e l'arte medica nell'Evo Moderno: per una storia dell'imbalsamazione artificiale dei corpi umani nell'evo moderno*. Rome: Università La Sapienza, 2005.
- Fornaciari A, Giuffra V, Marvelli S, et al. The Blessed Christina from Spoleto: a case of 15th century artificial mummy from Umbria (Central Italy). In: Peña PA, Martin CR and Rodriguez AR (eds) *Mummies and Science. World Mummies Research. Proceedings of the VI World Congress on Mummy Studies; 19 to 24 feb. 2007; Lanzarote, Spain*. Santa Cruz de Tenerife: Academia Canaria de la Historia, 2008, pp.521–527.

30. Fulcheri E. Mummies of Saints: a particular category of Italian mummies. In: Spindler K, Wilfing H, Rastbichler-Zissernig E, zur Nedden D and Nothdurfter H (eds) *Human mummies: a global survey of their status and the techniques of conservation*. Vienna: Springer, 1996, pp.219–230.
31. Bellagamba U and Day T. *Le double corps du roi*. Paris: Gallimard, 2003.
32. Bloch M. *Les Rois thaumaturges. Étude sur le caractère surnaturel à la puissance royale particulièrement en France et en Angleterre*. Paris: Istra, 1924.
33. Giesey R. *The royal funeral ceremony in Renaissance France*. Geneva: Droz, 1960.
34. Kantorowicz E. *The King's two bodies: a study in mediæval political theology*. Princeton, NJ: Princeton University Press, 1957.
35. Le Breton D. *La chair à vif. Usages médicaux et mondains du corps humain*. Paris: Métailié, 1993.
36. Gannal JN. *History of embalming, and of preparations in anatomy, pathology, and natural history; including an account of a new process for embalming* [R. Harlan, trans]. Philadelphia, PA: Dobson, 1840.

AUGIAS A., HUYNH-CHARLIER I., FROESCH P., MCMULLAN-WEITZEL B., CHARLIER P. Detection of an embalming strip on a French royal mummified head (Henry IV, 1610) : virtual reconstruction of a technical gesture. *6^e Colloque International de Pathographie* 2015 : 7-16.

AUGIAS A.⁽¹⁾, HUYNH-CHARLIER I.^(1,2), FROESCH P.⁽¹⁾,
McMULLAN-WEITZEL B.⁽³⁾, CHARLIER P.⁽¹⁾

**DETECTION OF AN EMBALMING STRIP
ON A FRENCH ROYAL MUMMIFIED HEAD
(HENRY IV, 1610) : VIRTUAL RECONSTRUCTION
OF A TECHNICAL GESTURE**

*DÉTECTION DE TRACES DE BANDELETTAGE SUR LA
TÊTE MOMIFIÉE DU ROI DE FRANCE HENRI IV (1610) :
RECONSTRUCTION VIRTUELLE DU GESTE TECHNIQUE*

Abstract

Embalming bandaging, well documented in Egyptian civilizations, is little known in Western context. It was exclusively a practice performed by the economic elite, such as the aristocracy, state leaders, and high ranking clergy. The critical study of medical and surgical reports, official reports, and historical chronicles paired with forensic anthropological analysis of rare preserved royal relics help to fill these data gaps. With this in mind, the mummified head of the French King Henry IV, killed by Ravaillac in Paris in 1610 and whose identification is now final thanks to a multidisciplinary study conducted in 2010 (1, 2), will be studied to better understand the bandaging practices in the Western world. With additional tests, such as medical CT-scan and observation of skin surfaces under a binocular microscope performed during this identification, it can be possible to study the head indirectly and reconstruct the dynamics of affixing embalming strips and reconstitution of gestural practitioners (mainly surgeons) during body conservation.

Résumé

Le bandeletage d'embaumement, bien documenté pour les civilisations égyptiennes, est peu connu en Occident. C'était une pratique exclusivement destinée à l'élite financière, comme l'aristocratie, les dirigeants d'État et le clergé de haut rang. L'étude critique des rapports médicaux et chirurgicaux, des rapports officiels et des chroniques historiques associées

(1) Equipe d'Anthropologie Médicale et Médico-Légale, UFR de Sciences de la Santé (UVSQ), 2 avenue de la source de la Bièvre, 78180 Montigny-le-Bretonneux, France.

(2) Département de Radiologie, CHU Pitié-Salpêtrière (AP-HP), boulevard de l'hôpital, 75013 Paris, France.

(3) North Carolina State University Graduate Program, Raleigh, NC, USA.

à une analyse anthropologique médico-légale de reliques royales rarement préservées contribuent à combler ces lacunes. Dans cet esprit, la tête momifiée du roi français Henri IV, tué par Ravaillac à Paris en 1610 et dont l'identification est maintenant définitive grâce à une étude pluridisciplinaire menée en 2010 (1, 2), sera étudiée dans le but de mieux comprendre la pratique funéraire du bandeletage dans le monde occidental. Avec des examens supplémentaires, tels que le scanner médical et l'observation des surfaces de la peau au microscope binoculaire, effectués lors de l'identification, il est possible d'étudier indirectement la tête afin de reconstruire la dynamique d'apposition des bandes d'embaumement et de restituer les gestes des praticiens (principalement des chirurgiens) pendant les soins de conservation du corps.

Introduction



Fig. 1 : *Right lateral view of the head of Henry IV.*

The practice of bandaging the dead is visible in many ancient and modern civilizations like the Scythians (3) in Central Asia (6th century BC – 4th century AD) and the animist Fali ethnic group in northern Cameroon (4). It is, however, among the Egyptians that this practice is the best known and documented, because of the large quantities of mummies studied in archaeo-anthropological context. The bandaging is then a strict discipline that takes place within a clear order : from the lower limbs to the skull. Initially, only one band of nearly 100 meters long was used during mummification for the maintenance of each part of the body, taking care to separate each part and each finger. Other wider strips – and in rare cases, boat sails (5) – were then used as outer shell and cleverly arranged symmetrically and joining, this time, all parts of the body (6). For the skull, the bandaging starts by setting the start of the tape on the right shoulder; “For the bandage, take Re-Horakhty’s fabric. Twenty-two strips to the right side and the left side of the face, that you shall set at ear level” (7). The ears appear to be the focal point of the strips. These were injected with oil based olibanum, wax and vegetable gum to ensure that they were affixed to give “a fine finish to the fabric and a good odor to the body (many oils and resins are the cause of brown and sometimes black hue of the mummies over time)” (6). Although no link has been described between these two practices (8), nevertheless, there is a similarity in the gestures among French practitioners, highlighted by the study of the head of Henry IV (Fig. 1).

The practice of bandaging the dead is visible in many ancient and modern civilizations like the Scythians (3) in Central Asia (6th century BC – 4th century AD) and the animist Fali ethnic group in northern Cameroon (4). It is, however, among the Egyptians that this practice is the best known and documented, because of the large quantities of mummies studied in archaeo-anthropological context. The bandaging is then a strict discipline that takes place within a clear order : from the lower limbs to the skull. Initially, only one band of nearly 100 meters long was used during mummification for the maintenance of each part of the body, taking care to separate each part and each finger. Other wider strips – and in rare cases, boat sails (5) – were then used as outer shell and cleverly arranged symmetrically and joining, this

Material and methods

King Henry IV of France was assassinated on May 14, 1610 by François Rav-aillac with two cardiac stab wounds. Transported to the Louvre the same day, he died shortly after (9). In accordance with custom, his body was autopsied and embalmed May 15, 1610 and then buried on June 30 (10, 11). During the desecra-tion of the Basilica St Denis by revolutionaries, his remains were scattered. On Saturday, October 12, 1793, the coffin of King Henry IV was opened and it was noted, « his body was found well preserved with well recognizable facial features, he remained in the passage of the low chapels wrapped in his shroud also well preserved. Everyone had the freedom to see it until Monday morning the 14th. We brought him into the choir at the edge of the steps of the sanctuary, where he remained for two hours in the afternoon. We laid him in the cemetery (known as Valois) in a large pit in the bottom right of the north. » (12). His head, separated from the body during this time and passed from hand to hand, was identified by a group of interdisciplinary researchers (1, 2).

Surgical and funeral works

Although no official embalming report has been kept for Henry IV, several bib-liographic elements document this funerary practice, including the final phase of the introduction strips completely wrapping the body.

In his *Surgery Works*, Jacques Guillemeau (1649) explains this practice during the preparation and embalming of Charles IX's body. It notes that he performed the same practices preparing kings Henry III and IV for burial (3). During the final stage of embalming, which is the bandaging and is our main focus, Jacques Guillemeau describes two different ways to proceed. Initially, the body is "put in a shroud and wrapped in oilcloth [...] twisted to either side with rope untied enough, and above, all will be wrapped again with a good and strong oilcloth and firmly tied with rope and wrapped, to be placed in a lead coffin [...] the said coffin will be exactly welded and put in another one that will be made of good wood." Secondly, the head, like the whole body, is bandaged with clean strips soaked in a melted and mixing liquor made of fresh wax, dust iris flowers, turpentine of Venice, Elemi gum benzoin and styrax, natterjack, myrrh, aloes, wormwood oil, and balsam of Peru (3). So that the bandage bonds well, it must be placed in a coal basin filled with the ingredients listed to soften them. The bandaged head is provided with a tissue headdress. The body is then covered with oilcloth and firmly tied with a large cord and wrapped in a shroud.

In his *Chirurgia*, Pierre Pigray offers us few details about embalming and ban-daging. It only tells us that after having sprinkled the body with a powdery mixture, "we bandage the legs to contain it, and we will wrap all with a well oilcloth and sprinkled said powders" (13).

The use of bandaging for embalming is also attested by engravings printed during and a few years after the exhumation, clearly presenting the strips around

the cadaver, the one around the head detached to expose the face at the occasion of the desecration of the royal tombs of Saint-Denis in 1793 (Fig. 6).

However, in his book *Pump Funeral of the Most Christian Henry the Great*, Claude Morillon (1610) testified that the day after the death of Henry IV, after the autopsy and embalming of his body, the king is brought in his coffin to his room and put in bed, “the face naked, and within the sight of the people” (10). “Shortly after, the chamber was richly carpeted, and the king’s body covered with a cloth of gold leaves” (10). “The said body remained in the said room in that manner for fifteen days; and then was brought down in great honor in the large basement room of the Louvre” (10). The wax effigy of the king appears at this time; “On top of the said room was erected a court of four steps, on which was erected a bedstead covered with a large cloth of gold, where was placed the effigy of Roy, who was raised and made with wax, having joined hands, wearing the Royal clothes and the crown on the head, which rested on a cushion of rich embroidery” (10). On Tuesday, June 29 at 10 pm, the body of the king and his image were carried and deposited in the middle of the choir of the Church of Our Lady (10) for divine service and the convoy returned to Saint-Denis and placed the body of the king in the church choir for Mass. The king’s body was then taken to the cellar in front of the high altar.

CT-scan observations



Fig. 2 : *CT-scan para-median sagittal section of the head with successive folds on the nape.*

In addition to these written sources, the presence of strips for embalming is confirmed by the analysis of the head of Henry IV through different biomedical tools : a medical scan performed at the University Hospital of the Pitié-Salpêtrière in Paris, as well as observations on the head itself, including the help of binocular microscope observations (Fig. 2 and 3). These will allow movement of the soft parts and distinguish a dynamic in the gestures of the embalmer.

Results

Initially, forensic analyses have highlighted four main areas of folds ; the neck (anterior and posterior part), nose, and right ear. Indeed, several crushing lesions by strips are observed on the nape and on the upper anterior face of the neck,



Fig. 3 : *Summit view with skin settlements (CT-scan 3D reconstruction with artificial light).*



Fig. 4 : *Crashed nose extremity (anterior view), with both nostril displaced on the left side of the face, and the nevoid lesion crushed and elongated over the right nostril.*

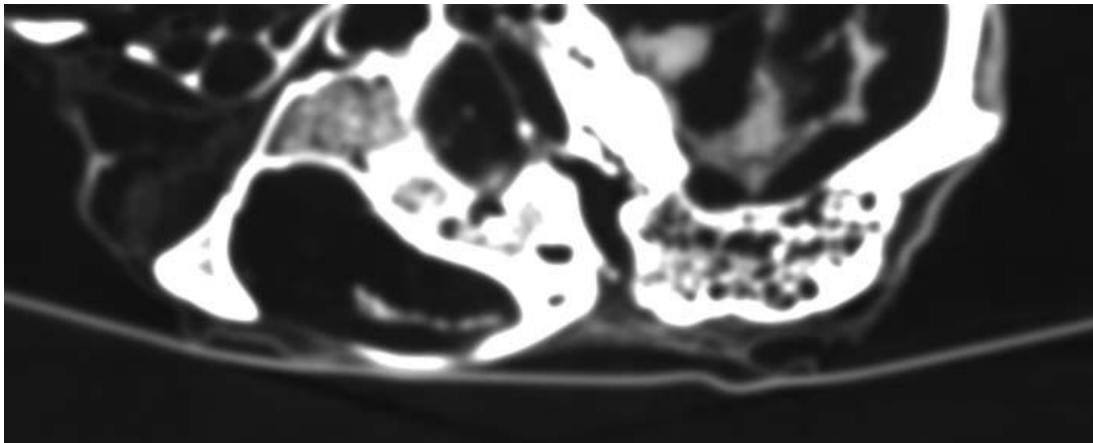


Fig. 5 : *CT-scan horizontal section of the right external auditory canal with an offset of the ear.*

just below the root of the chin. The nevoid lesion of the right nostril is crushed and transversally elongated by two contiguous strips (Fig 4) and then an anterior movement of 2 cm of the right ear with respect to the right external auditory conduit is observed (Fig. 5) because it is overlapped by a strip directed from back to front and left. In addition, large accumulations of soft tissue on the posterior surface of the skull look like superposed folds at the nape and skin settlements at the top of the skull between the vertex and the lambda are visible. The concentrations at the back of the skull indicate a dynamic from the nape to the top of the skull. The orientation of the folding of these areas allow us to observe a convolution directed from

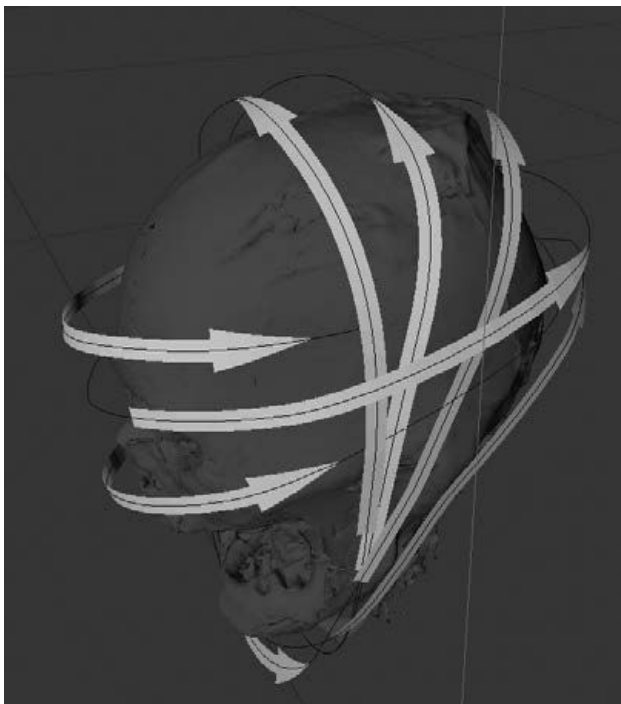


Fig. 6 : *Restitution of the position and movements of the strips embalming.*

left to right in the posterior face and right to left in the anterior side (Fig. 6).

Several zones of pullout skin at the top level of the parietal, temporal and of the left mandible are also visible (Fig. 7) which may correspond to adhesion surfaces of the waxed bands mentioned by Jacques Guillemeau (1649). The opening of the mouth and these pullout areas are the result of the withdrawal of these bands waxed during the desecration of the tomb on Saturday, October 12, 1793 where the king's face was uncovered to extract teeth and dentures with gold metal dental work as stated in revolutionary texts (12).



Fig. 7 : *Lateral left view with pullout areas in the mouth and back of the skull.*



Fig. 8 : *The Coronation of Ines de Castro in 1361 (detail), P.C. Comte, 1849, Museum of Fine Arts of Lyon, France.*

Discussion

The similarity between the Egyptians and the French royal surgeons in gestures of bandaging may reflect an expertise or practical natural guidance by the morphology of a skull in the fight against the reopening of the jaw after rigor mortis, and with the filling of cavities (nostrils, mouth, etc.).

Claude Morillon wrote that the king's body had been exposed in his room, where his face was discussed and soon after, the body was covered with a cloth of gold leaves. The body was left a fortnight in the room before being brought into the large basement room of the Louvre in Saint-Denis. This leads us to understand that the application of the facial bandaging must then have been done a second time. This "detail" is not mentioned by the surgeons of the king, Jacques Guillemeau and Pierre Pigray, who were in charge of embalming. The bandaging would have been done after the exposure of the king in his room and before the covering of the cloth of gold or before the deposit in the tomb of King, and therefore, after decomposition had begun.

This bandaging practice echoes in the Portuguese royal history with the painting "The Coronation of Ines de Castro in 1361" by Pierre-Charles Comte, representing the posthumous coronation ceremony of the noble Galician where we can see Ines de Castro with the bandage of embalming but the face uncovered when she was appointed Queen consort of Portugal (Fig. 8). In the case of King Henry IV, the use

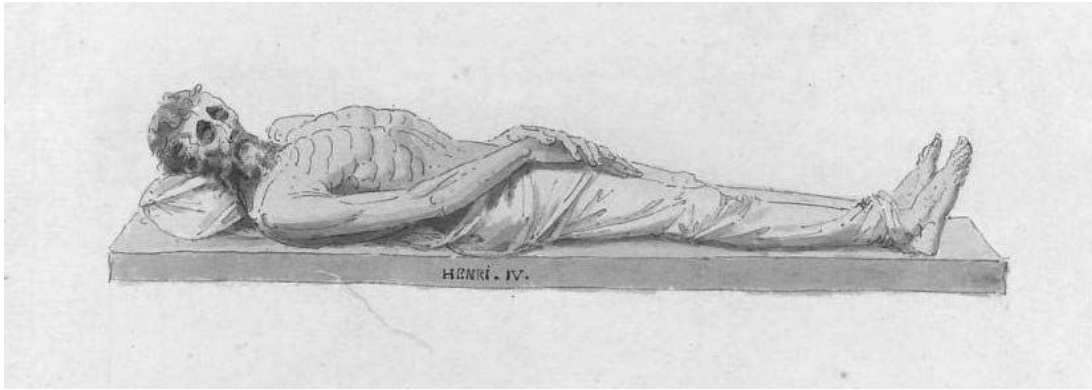


Fig. 9 : *The exhumed body of Henry IV, pencil by Alexandre Lenoir, National Archives, Paris.*



Fig. 10 : *The exhumed body of Henry IV, E.H. Langlois du Pont de l'Arche and Théodore de Jolimont, 1815 (Ste Genevieve Library, Paris, EST 193 RES P.39).*

of strips for embalming is also attested to by the engraving from Alexis Chataignier and Edme Bovinet (1815) based on E. H. Langlois du Pont de l'Arche and Théodore de Jolimont, stored at Sainte-Geneviève library, representing King Henry IV in his coffin during the desecration of the royal tombs leading to his exhumation on Oct. 12 to 14, 1793, or by the pastel done from nature by Alexandre Lenoir in 1793. It was at this point that the intact body of the king was beheaded and his head disappeared (Fig. 9, 10).

In conclusion, these forensic analyses have highlighted the dynamic of the embalming of Henry IV directed from the bottom up and to the left. The cross checking of the historical and technological data allowed the reconstruction of the embalmer's gestures as one of the last witnesses of this practice reserved for the elite. The involvement of a forensic and anthropological perspectives helps interpret *post-mortem* alterations (anatomical movements) and traces of human activities (14).

References

- (1) Charlier P. Multidisciplinary medical identification of a French king's head (Henri IV). *BMJ* 2010;341 : c6805
- (2) Charlier P. et al. « Use of 3D surface scanning to match facial shapes against altered exhumed remains in a context of forensic individual identification », *Forensic Sci Med Pathol.* 2014;10(4) :654-661.
- (3) Guillemeau J. La vraie et parfaite méthode de conserver et embaumer les corps morts : avec la description des baumes qui sont nécessaires pour ce faire. *Cœuvres de chirurgie*, chez Jean Viret, François Vaultier, Clement Malassis et Jacques Besonge, Rouen, 1649 :853-863.
- (4) Gauthier J.-G. Enveloppement en bandelettes et momification. A propos d'une sépulture de la nécropole prédynastique d'Adaïma. *Archéo-Nil*, 1992;2 : 131.
- (5) Josset P., Goyon J.-C. *Un Corps pour l'éternité – autopsie d'une momie*, le Léopard d'Or, Paris, 1988.
- (6) Beaumont H. *Égypte : le guide des civilisations égyptiennes, des pharaons à l'Islam*, édition Marcus, Paris, 2001.
- (7) Lichtenberg R. et al. Sous les bandelettes des momies. *Archéologia* 2008 ;456 : 16-45.
- (8) Georges P. Un embaumement égyptien en France ? Polémique au XIX^e siècle à propos d'une pratique conservatoire singulière. *Egypte, Afrique et Orient* 2003;31 : 63-66.
- (9) Le Floch-Prigent P. Bonnichon P. Pariente D. La mort du roi Henri IV (14 mai 1610). Analyse du compte rendu d'autopsie de Jacques Guillemeau. *Histoire des sciences médicales* 2009 ; 43 (2) :177-184.
- (10) Morillon C. *Pompe funèbre de très chrétien, très puissant et très victorieux Prince, Henry le Grand, Roi de France et de Navarre*, recueillie par C. M. I. D. M. L. D. D. M. M., Lyon, 1610.
- (11) Minevielle E. *La médecine au temps d'Henri IV : médecins, maladies, autopsie du roi*, Baillière, Paris, 1904.
- (12) Anonymous « *Journal historique de l'extraction des cercueils de plomb des rois, reines, princes, princesses, abbés et autres personnes qui avaient leurs sépultures dans l'église de l'abbaye royale de Saint-Denis en France* » du 12 octobre 1793 au 12 novembre 1793.
- (13) Pigray P. *Chirurgie tant théorique que pratique. Dédiée au roy tres chrestien Henry IIII. Roy de France et de Navarre. Revue corrigée et augmentée par l'auteur*. Chez Y. Mettayer, 2^e édition, Paris, 1604.
- (14) Boës E., Georges P. « L'étude des modifications de surface osseuse d'origine anthropique. L'apport des exemples historiques. », In *Ostéo-archéologie et techniques médico-légales : tendances et perspectives. Pour un Manuel pratique de paléopathologie humaine*, Charlier P. (dir), De Boccard, Paris, 2008.

1.2.2 La chevelure : marqueur de pouvoir

Parmi les marqueurs de pouvoir, le cheveu fait office de catalyseur. Cette partie du corps semble concentrer l'essence et la puissance de chaque individu, sans distinction sociale, et notamment grâce à son caractère pérenne. La chevelure est alors tantôt une offrande aux dieux dans la tradition grecque⁸⁰, tantôt une punition pour ôter la force et le repos d'un ennemi chez les guerriers amérindiens avec le scalp, ou une marque de puissance dans la tradition paléochrétienne avec Samson de même que chez les Visigoths, les Viking et les Francs. Le concile de Tolède (an 628) déclare même l'impossibilité de gouverner d'un roi aux cheveux coupés⁸¹. Ces traditions mémorielles et cultuelles autour des cheveux nous parviennent sous forme de reliquaires collectifs (conservés dans les lieux de cultes) ou individuels (bijoux de deuil) ou de pratiques élitistes administratives (sceaux).

La microscopie (MEB, HIM, optique) est alors un atout dans la compréhension de ces diverses traditions. Ainsi, il est possible de confirmer le caractère humain des cheveux analysés, de tester la véracité des écrits anciens, d'identifier les sujets et l'utilisation de toxiques curatifs⁸² ou la preuve d'un empoisonnement sur le long terme. Par l'utilisation de nouveaux outils, il s'agit de réfléchir sur de nouvelles approches méthodologiques applicables tant en contexte archéologique qu'en médecine légale.

⁸⁰ MERDRIGNAC B. Anthropologie, Mythologies et histoire de la chevelure et de la pilosité. *Annales de Bretagne et des Pays de l'Ouest* 2012 ; 119(1) : 189-192.

⁸¹ DE CHATEAUBRIAND F.R. *Analyse raisonnée de l'Histoire de France et fragments depuis Philippe VI jusqu'à la bataille de Poitiers, suivis de l'analyse raisonnée de l'histoire de France depuis Jean II jusqu'à Louis XVI*. Paris, La petite vermillon, 1998.

⁸² CHARLIER P. *et al.* Fatal alchemy. Did gold kill a 16th century French courtesan and favourite of Henri II, ask. *BMJ* 2009 ; 339 : 1402-1403.

CHARLIER P., NIELSEN M.A., AUGIAS A., PREVOST A., WEIL R., MCMULLAN-WEITZEL B. Into the wax : forensic and anthropological analysis of human hairs in Merovingian and Carolingian royal seals (France). *Forensic Sci Med Pathol.* 2016 ; 11(4).

Into the wax: forensic and anthropological analysis of human hairs in Merovingian and Carolingian royal seals (France)

Philippe Charlier^{1,2} · Marie-Adélaïde Nielen³ · Anaïs Augias¹ · Agnès Prévost³ · Raphaël Weil⁴ · Britta McMullan-Weitzel⁵

Accepted: 13 January 2016

© Springer Science+Business Media New York 2016

Introduction

Hair has always been a symbol of strength and power in many civilizations, especially in the earliest period of the French monarchy with the so called “hairy kings.” Indeed, the presence of human hairs inside official wax seals has been mentioned several times in ancient texts. So far, experts doubted the real presence of hair in these seals, and thought it was glands or fluids related to aging and/or sweating.

The purpose of these forensic observations and additional biomedical examinations is to determine the nature (human or animal?) and anatomical characteristics of hairs observed within a sample of Merovingian and Carolingian seals preserved in the French National Archives (Paris).

According to our analyses, it is possible to prove that the elements existing inside six of the eleven studied seals are human hairs, presumably belonging to the sovereigns themselves: Chilbert the Third, Chilperic the Second, Pippin the Short, Charlemagne, Carloman, and Pippin of

Aquitaine. Other elements, such as animal hairs, are only present in fake or restored seals.

Our investigations began by examining the seals with a Stereo Microscope Dino-Lite© Pro AM4000 to identify residue similar to hairy elements and sample for optical and electronic scanning. A direct visual evaluation was conducted regarding the color of the hairy elements.

The samples preliminarily submitted to an optical microscopic investigation were immersed into liquid paraffin (temperature significantly lower than 100 °C), then cooled, sectioned to 4–6 µm, deposited on a Superfrost® blade, colored manually with hematin/eosine/saffron, and then covered by a lamella. Systematic pictures were carried out at a magnification of 100×, under direct and polarized light, using a Leica© DM LB. A morphological study of the hair was also carried out using an Environmental Scanning Electron microscope Zeiss© Supra 55VP (low-vacuum and without metallization).

The purpose of these various observations and additional biomedical examinations was to determine the nature—human or animal—and anatomical characteristics of the hairy-aspect formations observed within seals.

✉ Philippe Charlier
philippe.charlier@uvsq.fr

¹ Section of Forensic and Medical Anthropology (UVSQ/EA4569 Paris-Descartes), UFR of Health Sciences, 2 avenue de la Source de la Bièvre, 78180 Montigny-Le-Bretonneux, France

² CASH of Nanterre, boulevard de la République, 92000 Nanterre, France

³ National Archives, rue des Francs-Bourgeois, Paris, France

⁴ Laboratory of Solid Physics, Paris Sud University, Orsay, France

⁵ North Carolina State University Graduate Program, Raleigh, NC, USA

Discussion

Numerous writings mention the presence of human remains inside seals, particularly the voluntary adding of hairs (scalp and beard) into the wax. Although some argue that “the use of beard in official acts is a clear and indubitable fact” [1], we could not find any account of an actual testimony of hair presence, nor any other references allowing us to trace those quoted texts. This misconception may have originated either from a legend or from some hasty conclusions based on simple observations of the

external appearance of the seal, which can appear to contain many objects such as fibers, and may have become more incrustated as the wax was exposed to heat and subsequently softened. These fibers can be of various natures: straw, brush hair, parchments, or textile fibers coming from old conditionings [2]. Definitely the most intriguing are the tow fibers furnishing the bags sewn around the seal as a protection [3] often found heavily impregnated within the wax. Such fibers could then have been mistaken for hairs.

Because of the common inclusion of foreign materials in such seals the discovery of hairs during a successive restoration of two seals, one belonging to Childebert the Third (Fig. 1), the other to Chilperic the Second, was a real surprise. Shattered and fragmented, the two seals showed fibers intimately bound to the wax. The first seal was barely attached to the parchment, although the wax of the rivet—different from the rest of the seal—indicated there had previously been an attempt at restoration to rebind it to the parchment. The fibers were bulging out at the place where the wax goes through the document, making the seal appear sewn. This hypothesis was quickly abandoned because fibers were also visible inside cracks and on the seal border. It is clear they could not have been simply deposited there but rather were deliberately mixed in with the wax. Is this a technique meant to consolidate the whole structure, similar to tow or straw used in sculpture or miscellaneous tempers found in pottery? It's slightly probable, because contrary to plant fibers generally used as reinforcement, those found in our seal were round and specific to animal fibers. Could, then, these be the hairs mentioned by ancient texts? A comparison with human hair conducted with the Digital Microscope lead toward this conclusion, but was insufficient to validate the hypothesis.

The presence of identical fibers inside Chilperic the Second's seal, sent to a laboratory a few months later, showed that this was not a coincidence. Since then, the

scientific investigation of the fibers confirmed the existence, before the Capetian period, of a practice meant to combine hair with wax as a preparation measure before sealing. Currently, the number of seals containing hair is six, while twenty more, presenting the same fiber patterns, are still being investigated. Mainly broken and fragmented, the seals allow us to observe through the cracked areas the more or less random entanglement of hair and wax; the fibers are sometimes oriented in the same direction, like a lock of hair. Even more surprisingly the lock of Chilperic's seal seems to follow those of the portrait on the seal mark (Fig. 2). This voluntary display and arrangement of the fibers, and the confirmation of their nature, allows us to sustain the idea of a strong symbolic gesture, which needed to be tested on a large sample of chronologically comparable seals.

Forensic and anatomical morphological testing provided all the answers to our questions. In humans the average hair diameter varies between 50 and 125 μm , with an average diameter for scalp hairs ranging between 80 and 100 μm . Beard hairs are generally over 100 μm [4]. Caucasian hair frequently has an elliptical section and an average diameter of 90–110 μm (against, for example, 110–120 μm diameter and a rounded section in Asian subjects) [5]. The medulla is inconstant, fine, granular, and without visible cells. The cortex is thick, presenting fine, pigmented, and scattered granules [6]. The scales of the cuticle are hardly visible and not prominent (Fig. 3). Finally, the medullar index (diameter of the medullar channel divided by the total diameter of the hair) remains generally less than 0.38 in humans, and greater than 0.5 when of animal origin [4].

Based on these objective data [7–9], it was possible to prove that the elements existing inside six of the studied seals are human hair: those of Childebert the Third, Chilperic the Second, Pippin the Short, Charlemagne, Carloman (Fig. 4) and Pippin of Aquitaine. The seals of Louis



Fig. 1 Complete view of the seal of Childebert the Third (K3, no. 12-1)

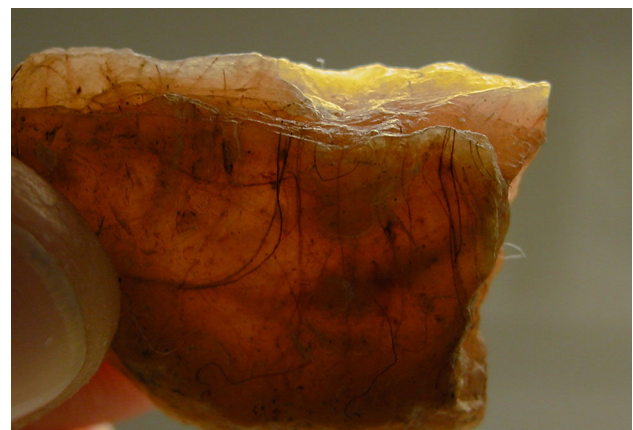


Fig. 2 Detail of the seal of Chilperic the Second (K3, no. 18; $\times 10$)

the Pious and Edgar the Peaceful contain hair of animal provenance (X 471 signed by Louis the Pious, and K17, no. 3 signed by Edgar the Peaceful). For the other three analyzed seals, the origin and nature of the hair could not be determined. The general composition of both wax and hair (Fig. 5a, b) has thoroughly been established. The overall composition of the seals' waxes (4 samples analyzed) comprises the following elements: carbon ($n = 4$), calcium ($n = 4$), potassium ($n = 4$), sodium ($n = 4$), oxygen ($n = 4$), phosphorus ($n = 3$), sulfur ($n = 3$), magnesium ($n = 3$), chlorine ($n = 2$), iron ($n = 1$), and lead ($n = 1$). Several observations regarding the color of the hair samples, such as their level of melanin, are also possible [8, 10, 11]. The hair present inside the seals of Childebert the Third, Chilperic the Second, and Charlemagne, is generally



Fig. 3 Microscopic view of a hair from the seal of Carloman (HES $\times 40$)

dark brown with a few strands of blond hair. The lock inside the seals of Pippin the Short is blond in one and white in the other. The seals of Carloman and Pippin of Aquitaine both contain light blond hairs. It is known that Charlemagne's hair (document K6, No. 7) was dark (dark brown; Fig. 6a) with a few light blonde hairs (Fig. 6b) and Pippin the Short's hair whitened between the establishment of document K5, no. 2 and K4, no. 6.1 (Fig. 6c, d). A common late contamination by alumina silicate (Al_2SiO_5) is noted on the hair and on the wax.

The wax from these seals was very likely softened by rubbing or *bain-marie*, but it seems that the melting point (approximately $65^\circ C$) was not reached. This is well below the temperature beyond which both animal and human hair suffers irreversible morphological modifications, such as torsion, deformation, and/or shrinkage ($150\text{--}175^\circ C$). For this reason we will consider the measurements obtained with the Scanning Electron Microscope in low-vacuum as reliable and corresponding to the characteristics of the subject during his life.

In many civilizations, the hair is an object of great respect [12]. From the Maldives to Chili, from Turkey to Congo, symbolic acts or rituals concerning hair are often related to force and power. A well-known example is that of Samson and Delilah, who cut Samson's hair in order to deprive him of his strength [13]. In addition to being an object related to reverence, hair is a powerful symbol of individuality, identity, and self-proclaimed position within a given group [14]. It is "powerful first because it is physical and therefore extremely personal, and second because, although personal, it is also public rather than private" [14].

For the Merovingians, nicknamed the "hairy kings" by Gregory of Tours [15], abundant hair was an important

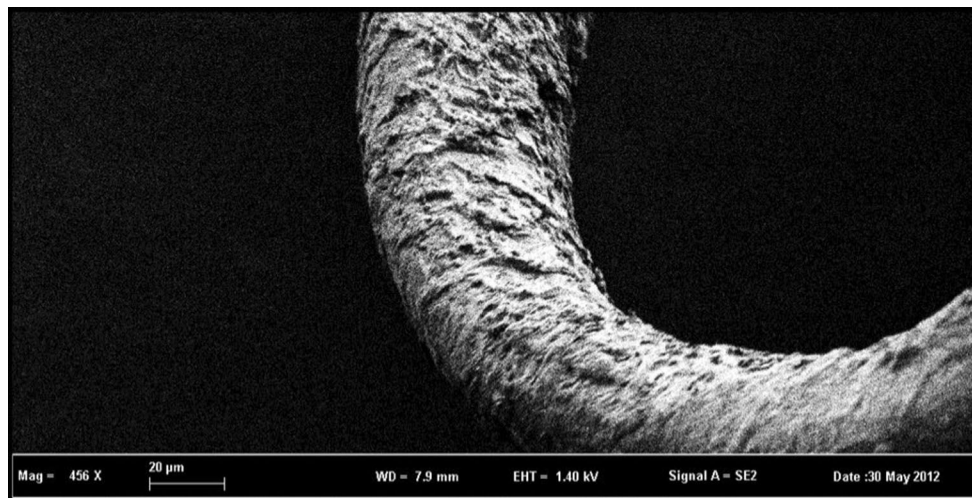


Fig. 4 SEM image of a hair from the seal of Carloman ($\times 450$)

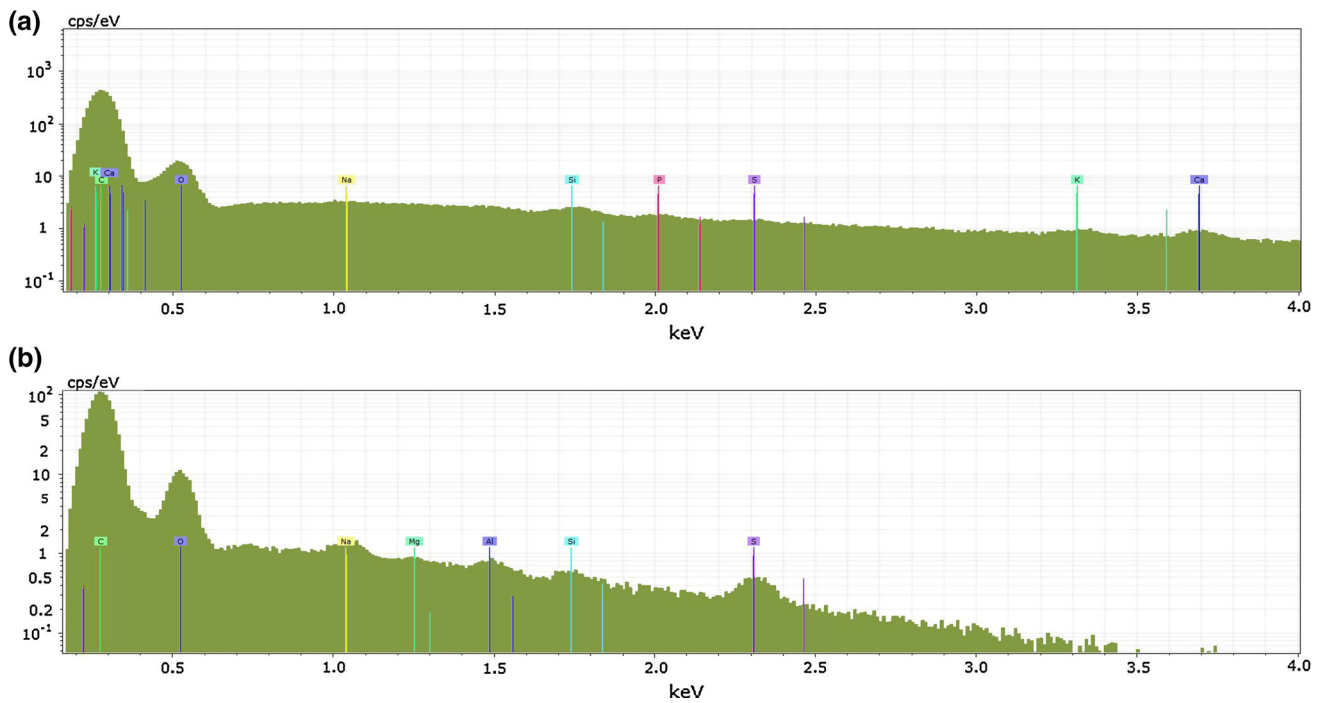


Fig. 5 **a** Elemental spectrum of the seal wax from Childebert the Third. **b** Elemental spectrum of a hair from the seal of Childebert the Third

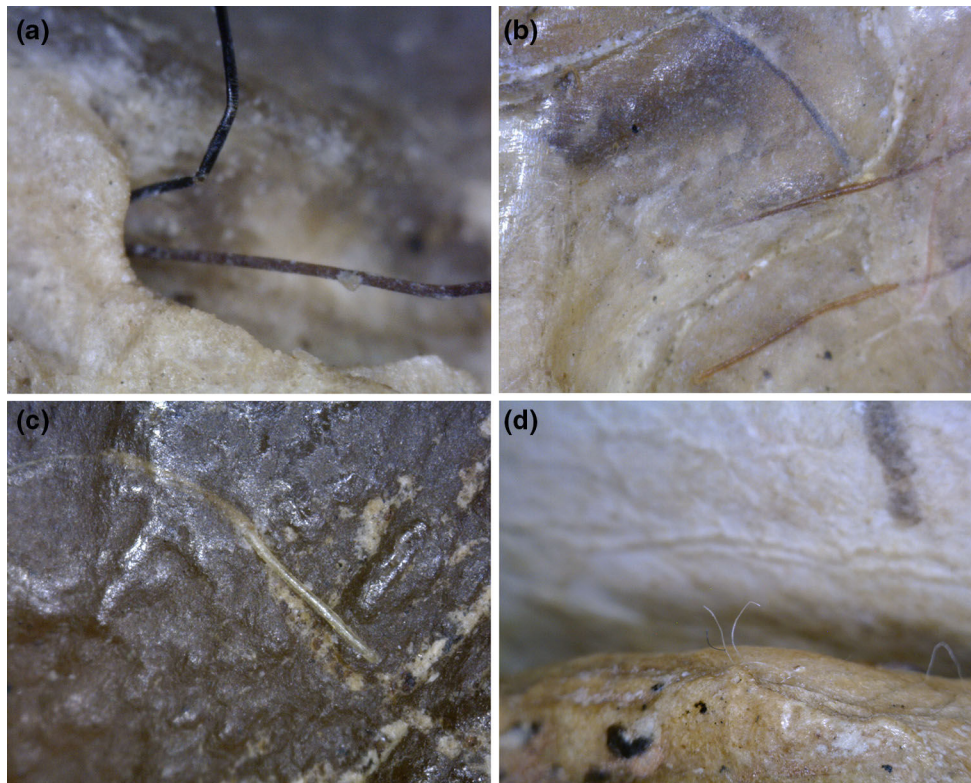


Fig. 6 **a** Dark hairs from the seal of Charlemagne ($\times 20$). **b** Blond hairs from the seal of Charlemagne ($\times 20$). **c** Blond hairs from the seal of Pippin the Short ($\times 20$). **d** White hairs from the seal of Pippin the Short ($\times 10$)

feature [16, 17]. The episode during which Queen Clotilde declares that she would rather see her grandsons dead than shorn is a familiar one [18]. It is also known that the last Merovingian king was shorn before being laid to rest [19] by Pippin the Short in 751 AD.

However, finding hair inside these wax seals remains surprising and raises questions, mostly because none of the contemporary sources of information regarding seals mention it. Since we have established that the presence of the hair was not accidental, questions regarding who put it there, why, following what process, at what moment, and, most importantly, to whom does it belong are raised? Furthermore, the presence of animal hair in some of the seals means that the inclusion of hair as a technical procedure meant to reinforce the wax cannot be excluded. Although why hair would be used rather than the vegetal fibers that were already used in sculpture is unknown. Another point to consider is why both human hair and animal hair were used, but were not used together in the same seal.

Locks of hair were also found in several Merovingian phylacteries [20]. Long hair seems to have been a necessary attribute of the sovereign; introducing it into the wax could have held the function of reinforcing and consolidating the executive power of the legal act, materializing the presence of the person sealing inside it. Perhaps including such a personal remnant related to respect [12] and identity [14]; strands or locks of hair incorporated into an individualized, identifiable seal on important or confidential documents may have been a powerful act of symbolism by the monarchs.

Hair has been discovered in the seals validating documents of Theuderic the Third (June 30st, 679 AD), of his son Chilbert the Fourth (between 695 and 697 AD) and of Chilperic the Second (March 716 AD).

These unrefined and rough seals depict a head with long hair falling on to the shoulders. Thus, the intention behind adding parts of the royal body, in the form of hair, to these seals may have been to strengthen the power of these exhibited attributes. But being certain of the origin of the hair is difficult; it is in fact royal hair or does it belong to a royal officer, or some other witness of the legal act?

This practice, far from being lost during the Carolingian dynasty, continued for several more decades. Numerous legal acts of Pepin the Short, and of his sons Charlemagne and Carloman, and other descendants, were sealed with hair-stuffed wax.

Finally, we have surmised that the later seal containing animal hair was probably “fabricated” in the mid-eleventh century by the monks of Saint-Denis [21] in order to copy a diploma emanating from the English king, Edgar the Peaceful. The intention was to give this document the only material form that marked it as valid and authentic.

The chance discovery of hairs in the Merovingian and Carolingian seals and the analyses that followed raised more questions than were answered. Most certainly, scientific analysis was helpful in determining the nature of the hair and clearly showed that they were deliberately put inside the seals. As for the other points raised in our paper, further examination of the wax and the continuing research on the remaining seals should soon provide new information.

Acknowledgments We would like to acknowledge Rachel Perash, Confederated Colville Tribes, for proofreading and correction of this article.

References

1. Molé E, et al. *Le livre d'or des métiers, Histoire de la coiffure, de la barbe et des cheveux postiches*. Paris: Adolphe Delahays; 1958 (reprint). p. 94.
2. Prévost A. Keep the seals: history of French seals conservation. International seminar “Preserving documents science and restoration”. Universidade de Coimbra; 7–8 June 2010.
3. Douët d'Arcq L. *Inventaire de la collection des sceaux des Archives de l'Empire*. Tome I. Paris: Henri Plon; 1863. p. 32.
4. Balthazard V. *Précis de Médecine Légale*. 2nd ed. Paris: J.B. Baillière; 1911.
5. Saferstein R. *Forensic science handbook*. New Jersey: Prentice Hall; 1982.
6. Vibert C. *Médecine légale*. 8th ed. Paris: J.B. Baillière; 1911.
7. Charlier P, Durigon M. Poils et cheveux en paléopathologie et anthropologie médico-légale. In: Charlier P, editor. *Ostéo-archéologie et techniques médico-légales*. Paris: De Boccard; 2008. p. 211–8.
8. Robertson J, Aitken CGG. The value of microscopic features in the examination of human head hairs: analysis of comments contained in questionnaire returns. *J Forensic Sci*. 1986;31: 563–73.
9. Durigon M. *Pratique médico-légale*. Paris: Masson; 2007. p. 117–9.
10. Charlier P. Des cheveux ou poils proviennent-ils du même individu? L'exemple d'Agnès Sorel (1422–1450) et de ses médaillons de cheveux. In: Charlier P, editor. *Ostéo-archéologie et techniques médico-légales*. Paris: De Boccard; 2008. p. 219–20.
11. Bisbing RE, Wolner MF. Microscopical discrimination of twins' head hair. *J Forensic Sci*. 1984;29:780–6.
12. Frazer JG. *Le rameau d'or. Étude sur la magie et la religion* (translation by Lady Frazer & H. Peyre). Paris: Robert Laffont; 1981. p. 632–648.
13. Le Fur Y, editor. *Cheveux chéris. Frivolités et trophées*. Paris: Musée du Quai Branly; 2012.
14. Synnott A. Shame and glory: a sociology of hair. *Br J Sociol*. 1987;38(3):381–413.
15. De Tours G. *Histoire des Francs* (translation by Latouche R). Book II. Paris: Les Belles Lettres; 1963. p. 98.
16. Hoyoux J. Reges criniti. Chevelures, tonsures et scalps chez les Mérovingiens. *Rev Belge Philol Hist*. 1948;26:479–508.
17. Le Jan R. La sacralité de la royauté mérovingienne. *Annal Hist Sci Soc*. 2003;58:1217–41.
18. De Tours G. *Histoire des Francs* (translation by Latouche R). Book III. Paris: Les Belles Lettres; 1963. p. 18.

19. Kurze F, editor. Annales Regni Francorum, a. 749. In: *Scriptores Rerum Germanicarum*. Hanovre; 1895. p. 8.
20. France-Lanord A. La plaque-boucle reliquaire de l'époque mérovingienne de Saint-Quentin. *CRAI*. 1956:264.
21. Atsma H, Vezin J. Le dossier suspect des possessions de Saint-Denis en Angleterre revisité (viii^e-ix^e siècles). *Fälschungen im Mittelalter, iv: Diplomatische Fälschungen (II)*, M. G. H. Schriften 33.4. Hanover; 1988. p. 211–236.

CHARLIER P., WEIL R., DEBLOCK R., AUGIAS A., DEO S. Helium ion microscopy (HIM) : Proof of the applicability on altered human remains (hairs of Holy Maria-Magdalena). *Legal Medicine* 2017 ; 24 : 84-85.



Helium ion microscopy (HIM): Proof of the applicability on altered human remains (hairs of Holy Maria-Magdalena)



Scanning Electron Microscopy (SEM) has long been the standard in imaging the sub-micrometer surface ultra-structure of both hard and soft materials, including altered human remains [1,2]. In the case of biological samples, it has provided great insights into their physical architecture. However, three of the fundamental challenges in the SEM imaging of soft materials are that of limited imaging resolution at high magnification, charging caused by the insulating properties of most biological samples and the loss of subtle surface features by heavy metal coating. These challenges have recently been overcome with the development of the Helium Ion Microscope (HIM), a new technology that uses a highly focused helium ion beam to scan and interact with the sample, which is not coated [3].

To date, since its first use in biological sciences [4,5], HIM has not been tested on ancient human material in terms of non-alteration of the sample and accuracy of the image resolution.

In this paper, we have submitted a sample of paleo-Christian human hair (relics of St. Maria Magdalena, Saint-Maximin-La-Sainte-Baume, France) to a HIM examination.

A SEM was used to perform the first morphological observations (Zeiss supra55vp); this field-emission microscope (FE-SEM) operates at 0.5–30 kV. To maintain the integrity of the sample, measurements were taken without the usual deposits of carbon or gold on its surface. High-resolution observations were obtained by an Everhart-Thornley SE detector at 0.8 or 1.2 kV. This low-accelerating voltage induces aberration increases and lowest resolutions.

The microscope (an ORION Nanofab Zeiss) consisted of an ultra-high brightness gas field ionization source (GFIS). The source was formed by only three atoms at the apex of the source tip. The tip was cryogenically cooled and exposed to high voltage (30 kV) in the presence of helium, with an ionized gas field generated at the apex of the tip (the ion emission originates preferentially from atoms at the apex; only one atom is selected for imaging, the source size being then below an angstrom, and the extracted ions being accelerated by the column of the microscope then raster scanned like in a SEM). Secondary electrons were collected by an Everhardt-Thornley detector. Positive helium ions were neutralized by an electron gun near the surface to avoid charging effects. By this way no coating was needed. The source current used for this study was 0.25 pA.

High-resolution images were then compared from $\times 1000$ to $\times 42,000$, i.e. magnifications currently used for fiber or cellular observations, up to details of diatom structure for precise sub-species identifications (Fig. 1A and B). Clearly, HIM exhibited substantially higher resolution with a larger depth of field compare to a FE-SEM. It was also extremely sensitive to the surface details of

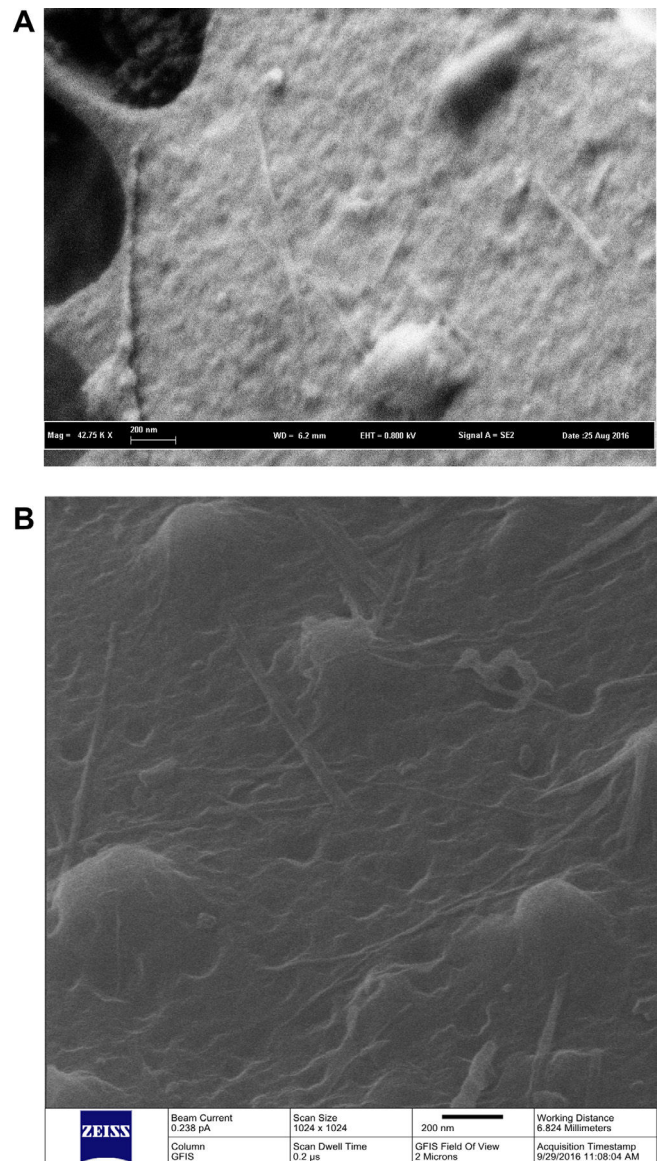


Fig. 1. Detail of a diatom (*Cyclotella meneghiniana*) present on the surface of the hair (magnification $\times 42,000$) under FE-SEM (A) and HIM (B) examination.

the sample. We did not notice any damages on the sample for this current (0.25 pA), even with repeated examination of the same zone.

HIM provides significant advances in charge reduction, minimized sample damage, high surface contrast without the need for metal/conductive coating, increased depth of field, and superior resolution down to <0.5 nm at high magnification. In the field of forensics, and notably forensic anthropology, this technique should find an important development for ultra-structural observation of traces or degraded elements, especially as surface elemental analyses remain possible in the absence of any coating.

Compliance with ethical standards

No particular funding.

No conflict of interest related to this research.

No animal involved in this research.

All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards (archaeological sample).

No informed consent obtained from all individual participants included in the study (archaeological sample).

Acknowledgment

To CNRS, CEA, University Paris-Sud, DIM NANO'K, Labex PALM, Labex NANOSACLAY and LIDEX NANODESIGN for the purchase of the Orion microscope (financial support). To father Florian Racine, for the authorization of examining the relics of Maria-Magdalena. To Tom Hill, for the diatom identification. To Lionel Aupart, for permanent technical support.

References

[1] P. Charlier, I. Huynh-Charlier, O. Munoz, et al, The microscopic (optical and SEM) examination of dental calculus deposits (DCD). Potential interest in

forensic anthropology of a bio-archaeological method, *Leg. Med.* 12 (2010) 163–171.

- [2] P. Charlier, P. Georges, F. Bouchet, et al, The microscopic (optical and SEM) examination of putrefaction fluid deposits (PFD). Potential interest in forensic anthropology, *Virchows Arch.* 453 (2008) 377–386.
- [3] M.S. Joens, C. Huynh, J.M. Kasuboski, et al, Helium Ion Microscopy (HIM) for the imaging of biological samples at sub-nanometer resolution, *Sci. Rep.* 3 (2013) 3514.
- [4] D. Bazou, G. Behan, C. Reid, J.J. Boland, H.Z. Zhang, Imaging of human colon cancer cells using He-Ion scanning microscopy, *J. Microsc.* 242 (2011) 290–294.
- [5] D. Gerlach, T. Kaminski, F. Perez-Willard, et al, Nanofibers in a hyaluronan-based pericellular matrix, *Matrix Biol.* 9 (2010) 664–667.

P. Charlier^{a,b,*}

R. Weil^c

R. Deblock^c

A. Augias^a

S. Deo^a

^a Section of Medical and Forensic Anthropology, UFR of Health Sciences (UVSQ & EA 4569 Paris-Descartes), 2 avenue de la source de la Bièvre, 78180 Montigny-Le-Bretonneux, France

^b CASH & IPES, avenue de la République, 92000 Nanterre, France

^c Laboratoire de Physique des Solides, CNRS, Université Paris-Sud, Université Paris-Saclay, 91405 Orsay Cedex, France

* Corresponding author at: Section of Medical and Forensic Anthropology, UFR of Health Sciences (UVSQ & EA 4569 Paris-Descartes), 2 avenue de la source de la Bièvre, 78180 Montigny-Le-Bretonneux, France.

E-mail address: philippe.charlier@uvsq.fr (P. Charlier)

Available online 18 December 2016

CHAPITRE 2. LA TRADITION : UNE ARCHÉOLOGIE IMMATÉRIELLE ET PÉRISSABLE RÉVÉLÉE

Le rapport à la mort et au corps mort est, depuis toujours, un vecteur important dans les communautés. Fantasmés ou craints, les défunts sont tantôt parés de pouvoir protecteur tantôt propagateur du mal, tantôt gardés au plus près des siens tantôt éloignés. Il apparaît alors autant de traditions, croyances et pratiques funéraires que de cultures elles-mêmes, allant jusqu'à avoir un réel impact sanitaire.

L'idée que les morts puissent revenir perturber les vivants semble être une peur « archaïque », aussi vieille que l'homme, comme inscrite dans notre patrimoine génétique. Pour induire ou se préserver de ces éventuelles visites *post-mortem*, l'homme a alors mis en place divers rituels. Pour se protéger des morts, et notamment des mauvais morts (humain comme animal), c'est-à-dire des morts violentes et/ou prématurées⁸³, certaines cultures vont mettre en place un panel de cérémonies (talismans, philtres, libations,...) afin de contrer un éventuel esprit aigri et revancharde. Des funérailles complètes sont alors un minimum pour servir la mémoire du défunt et s'assurer que celui-ci soit satisfait et ne revienne pas interférer dans la vie des vivants.

On retrouve déjà cette appréhension inscrite sur des tablettes babyloniennes datant de 721-612 av. J.-C., lesquelles décrivent les morts générant des entités malfaisantes⁸⁴. Cette pensée va alors traverser le temps, et inspirer les plus grands esprits de l'Antiquité gréco-romaine et égyptienne à l'image des lois de Platon (428-348 av. J.-C.)⁸⁵ ou du *Traité sur l'abstinence des animaux* de Porphyre (234-310)⁸⁶.

Dans le vaudou haïtien, encore aujourd'hui, bien que la mort soit uniquement considérée comme un passage, la population est très attentive lorsqu'un proche meurt. En effet, le « ti bon ange », qui est la représentation de la personnalité, l'individualité d'une personne (par opposition au gros bon ange qui représente les réflexes innés d'une personne comme manger, boire, respirer), peut alors être volé au défunt dans le but d'être utilisé dans la magie noire⁸⁷.

⁸³ CHARLIER P. *Male mort : Morts violentes dans l'Antiquité*. Paris, Fayard, 2009.

⁸⁴ BERNAND A. *Sorciers grecs*, Paris, Fayard, 1991.

⁸⁵ PLATON. *Lois*, 9, 865 (traduction E. Chambry).

⁸⁶ PORPHYRE. *Traité sur l'abstinence des animaux*, 2, 47 (traduction M. de Burigny).

⁸⁷ CHARLIER P. *Zombis. Enquête sur les morts-vivants*. Paris, Tallandier, 2015.

Au moyen de supports ethnographiques, il s'agit d'appréhender l'immatériel à travers la pratique culturelle/cultuelle, et ainsi de comprendre les sociétés associées et les comportements qui en découlent, que ce soit dans le cadre de l'anthropologie (biologique et sociale), de l'archéologie et du judiciaire. Les outils biomédicaux, quant à eux, offrent la possibilité de réaliser de véritables autopsies non-destructives/non-invasives des artefacts, et permettent une interprétation différentielle de certains faits archéologiques.

La radiographie et la toxicologie vont en ce sens permettre de déceler l'invisible, de comprendre les moyens mis en place par l'homme pour faire face au surnaturel, à ses peurs et pour se rassurer, pour contrôler l'inconnu allant jusqu'à se mettre en danger.

Cette approche n'est pas à négliger car elle apporte une lumière dans la compréhension des différents comportements actuels dans ce monde, sans frontière chronologique ni spatiale, qu'ils soient issus de contextes médicaux, médico-légaux, victimologiques, anthropologiques et sociologiques.

2.1 Analogie ethnographique

De ces traditions ancestrales ne persistent que des vestiges immatériels et périssables (automatismes comportementaux, enseignements oraux et récits populaires). En Europe, les pratiques et réalisations magico-religieuses puis nécrophobiques issues de la pensée gréco-romaine tendent à disparaître voire ont disparu au cours des siècles. Toutefois, d'autres traditions demeurent vivantes dans plusieurs ethnies contemporaines.

Pour tenter de s'approcher au plus près des craintes liées à la mort de nos ancêtres lointains, l'analogie ethnographique pourrait s'avérer indispensable. Les sociétés et traditions actuelles pourraient être le reflet d'une culture ancestrale dont elles conservent l'héritage, bien que leurs significations premières se soient perdues au cours du temps. L'analogie ethnographique avec certaines sociétés reculées actuelles peut alors nous apprendre sur les sociétés sans écriture (présentes comme passées), ou sujettes aux tabous, et sur notre histoire matérielle conservée dans le sol.

Cette démarche d'utiliser les informations ethnographiques en archéologie est aussi ancienne que les disciplines elles-mêmes. Bien que ce raisonnement ait longtemps été discuté, il reste l'un des principaux et le plus pertinent moyen d'interpréter l'ordre fonctionnel ou spirituel. Ainsi, certains artefacts ont pu trouver une interprétation, à l'image du propulseur magdalénien mis au jour en fouilles archéologiques⁸⁸ et encore d'usage dans certaines sociétés contemporaines de chasseurs-cueilleurs comme au Mexique, en Arctique et en Australie⁸⁹. Une nouvelle démarche analogique apprécie les agissements des primates pour discuter du caractère empirique de certaines connaissances et certains comportements. Il a ainsi pu être observé chez les chimpanzés une automédication^{90,91} ainsi que la pratique de la géophagie⁹². La transmission de ces savoirs se fait par l'observation des adultes par les jeunes.

Bien que ces comparaisons servent la question du pourquoi, pour le mobilier en matière périssable la question du comment restent en suspens.

⁸⁸ RENAUD E. B. Propulseurs et Sagaies préhistoriques des Indiens « Basket-Makers ». *Etudes d'Archéologie et d'Ethnologie du Sud-Ouest Américain, Bulletin de la Société préhistorique de France*. 1925 ; 22(11) : 297-312.

⁸⁹ CONTE E. *L'archéologie en Polynésie française : Esquisse d'un bilan critique*. Tahiti, Au vent des Iles, 2000.

⁹⁰ KRIEF S., HLADIK C.M., HAXAIRE C. Ethnomedicinal and bioactive properties of the plants ingested by wild chimpanzees in Uganda. *Journal of Ethnopharmacology* 2005 ; 101 : 1-15.

⁹¹ KRIEF S. Effets prophylactiques et thérapeutiques de plantes ingérées par les chimpanzés : la notion d' « automédication » chez les chimpanzés. *Primatologie* 2004 ; 6 : 171-191.

⁹² KLEIN S., FRÖHLICH F., KRIEF S. Geophagy : soil consumption enhances the bioactivities of plants eaten by chimpanzees (*Pan troglodytes schweinfurthii*). *Naturwissenschaften* 2008 ; 95 (4) : 325-331.

Dans le cadre de découvertes archéologiques ou ethnologiques de mobiliers en matières périssables, l'examen devient destructeur par le simple fait de manipuler l'artefact. Pour permettre leur conservation, l'intervention des outils de type scanner médical est indispensable car ils proposent la création d'un double et une autopsie virtuelles. Ainsi, il est possible de consulter l'objet indéfiniment afin de développer nos connaissances sur ces artefacts, pouvant être soumis à un tabou, à une interdiction pénale ou ayant disparu, afin d'en comprendre la vocation. De plus, ces technologies médicales vont permettre de répondre à ces réflexions et, par la même, tester les rares mentions ethnographiques sur le sujet.

CHARLIER P., BRUN L., AUGIAS A., BOU ABDALLAH F., BOUTROS YARED Y., DEO S., HERVÉ C. “What is a dead body?” Confrontation of sub-Saharan Africa versus French medical students’ attitudes toward autopsy related beliefs, (soumis).

1 **“What is a dead body?” Confrontation of sub-Saharan Africa versus French medical**
2 **students’ attitudes toward autopsy related beliefs**

3 Philippe Charlier^{1,2}, Luc Brun^{1,3}, Anaïs Augias¹, Fabiola Bou Abdallah^{1,4}, Yasmina Boutros
4 Yared^{1,5}, Saudamini Deo¹, Marie-France Mamzer⁶, Christian Hervé⁶

5

6 1. Section of Medical and Forensic Anthropology (UVSQ / Paris Descartes University EA
7 4569), UFR of Health Sciences, 2 avenue de la Source de la Bièvre, 78180 Montigny-Le-
8 Bretonneux, France.

9 2. CASH & IPES, avenue de la République, 92000 Nanterre, France.

10 3. Department of Pathology, University Hospital, Parakou, Benin.

11 4. Lebanese University, Faculty of Medical Sciences, Hadad, Lebanon.

12 5. Hôpital Libanais Geitaoui (centre hospitalier universitaire), Beyrouth, Lebanon.

13 6. Laboratory of Medical Ethics and Forensic Medicine, University of Paris 5, 75006 Paris
14 Paris, France.

15

16 **Corresponding author**

17 Philippe Charlier MD PhD LittD

18 philippe.charlier@uvsq.fr

19 Section of Forensic and Medical Anthropology (UVSQ / EA 4569 Paris-Descartes)

20 UFR of Health Sciences,

21 2 avenue de la source de la Bièvre

22 78180 Montigny-le-Bretonneux (France)

23 Tel. 0170429272 (office)

24

25 **Acknowledgments**

26 To Rachel Perash, Confederated Colville Tribes, for English proofreading and correction of
27 this article.

28

29 **Abstract**

30

31 Dissection of a human cadaver is a particular rite of passage for medical students
32 and, for a large majority, constitutes the students' first confrontation with a dead human
33 body. This process can be the subject of various reactions and concerns depending on the
34 sensitivity of each student due to the cultural beliefs of the individuals concerned.

35 In order to highlight these variations of work related to personal traditions, the
36 experiences of two groups of medical students from Benin and France in the autopsy room
37 were surveyed via a questionnaire.

38 Similarities and differences relating to behaviors and concerns of the physical and
39 spiritual realms are then discussed.

40

41 **Keywords**

42 Forensic anthropology; forensic medicine; law; forensic pathology.

43

44

45 **Introduction**

46 In a direct continuation of the Hippocratic medical treatise *On Airs, Waters and*
47 *Places*, explaining that the prognosis of patients vary depending on their environment¹, the
48 doctor's behavior is, in the same way, subject to this environmental influence, either natural
49 or cultural. Thus, traditional beliefs related to death and the attitude of a young doctor
50 working with human corpses differ depending on the context². This topic has already been
51 the subject of a study in 2011 in Benin, where, during a week of intensive courses in medical
52 anthropology, 77 undergraduate students in their second-to-last (5th) year of medical school
53 at the University of Parakou (60 males and 17 females, from 22 to 34 years old) participated
54 in a survey to explore the traditional African beliefs and medical students' attitudes towards
55 work on human corpses³. This demonstrates the importance of ancestral traditions among
56 future Beninese MDs.

57 The beliefs of the Beninenses and the French were compared in order to observe the
58 similarities and differences of these two cultures while working with human remains.

59

60 **Materials and methods**

61 In the context of a university course discussing their first scientific autopsies in June
62 2015, 54 second-year medical students from PACES at the University of Saint-Quentin-en-
63 Yvelines (UVSQ), counting 36 girls and 18 boys aged 18 to 26 years old, participated in a
64 study under the same conditions as their colleagues from Benin. The same printed
65 questionnaire form (designed collectively by all co-authors of this paper) had been handed
66 to each student after his or her first autopsy. All responded to the questionnaire willingly.

67

68 **Results**

69 A total of 46% (n = 25) of the Parisian students estimate that the dead bodies belong
70 to the deceased's family, 39% (n = 21) to no one, and 22% (n = 12) think that the decision
71 belongs to the person during his lifetime. The dead body is seen as a "sacred object" for 61%
72 (n = 33), but non-sacred for 63% (n = 34). 91% (n = 49) believe the body deserves respect,
73 but are also disgusted (28 %, n = 15). While anonymity of the body is respected, many
74 Parisian students gave a name to the corpse (45%, n = 24) during their first dissection, and
75 some of them spoke to the deceased during the work (22%, n = 12) to familiarize themselves
76 with the situation. The autopsy is not regarded as a profanity (98%, n = 53) and 76% (n = 41)
77 did not object to the autopsy of a recently deceased person, although some concerns
78 remained about the restitution delay of the body (30%, n = 16), the body's fragmentation
79 (52%, n = 28), the absence of complete restoration of body (50%, n = 27), the feeling of
80 defilement of the body (31%, n = 17), alteration of skin barrier (4%, n = 2), the integrity of
81 the organization (22%, n = 12), and disrespect for tradition, local rules, or customs (20%, n =
82 11). When it comes to delaying the autopsy by one month, the delay of inhumation of their
83 relatives in order to take back all organs sampled for histological purposes, 61% (n = 33) did
84 not approve of the decay. Finally, 85% (n = 46) believe that modern embalming and / or
85 formaldehyde-based conservation is not unnatural. After their first experience of working on
86 the body, only 19% (n = 10) of students think they will offer their bodies to Science. It
87 appears to many as a waste due to their lack of experience and dexterity, and they seem
88 unwilling for their loved ones to donate their bodies to science.

89 The comparison between the results of medical students from the University of
90 Parakou in West Africa¹ and from the University of Saint-Quentin-en-Yvelines (UVSQ)
91 showed similarities towards certain situations resulting from character and human

92 sensitivity and differences in views related to socio-religious aspects (Table 1). Medical
93 procedures performed on the body face apprehension due to cultural traditions, and the
94 corpse is seen as an anatomical subject. It is during the return and/or the burial of the
95 deceased that opinions differ. The fact that some organs will not be replaced in the body
96 after the autopsy (for microscopy purposes) divides the two groups of students. Only 22% (n
97 = 12) of students in Paris believe this to be a concern when dealing with the body of a close
98 family member, unlike the Beninese students (52%, n = 40). This can be explained not only
99 by religious convictions, but also by the fact that, in France, the bodies are cremated while in
100 Benin they are buried. It is the same for the repatriation of the body to the country of origin
101 of foreign-born individuals located in Western anthropological collections, where 22% (n =
102 12) of the French students are against repatriation (61%, n = 46). Beninese students are
103 divided as to the vulnerability of the dead body (50%, n = 38) while the non-vulnerability of
104 the dead body is seen as greater in the West Paris students (63%, n = 34). In Benin, the
105 deceased are part of a group and the decisions about the corpse belong to the family (88%,
106 n = 67), while in France, the decision is more individualized; decisions sometimes could
107 belong to anybody (39%, n = 21), to the deceased (15%, n = 8) or the state (6%, n = 3).
108 Respect for rules and traditions are important aspect for Beninese students (82%, n = 62),
109 while the West Paris students' opinions are divided (43%, n = 23).

110

111 **Discussion and conclusion**

112 From the results obtained, it appears that different attitudes of individuals could
113 come from a collective unconscious, from the "genetic" prints of history or fears of a whole
114 society, what Fernand Braudel explained very well in his *Grammaire des civilisations* : "For
115 each era, a certain representation of the world and things, a dominant collective mentality

116 dominates, penetrates the whole mass of society. This mentality that dictates attitudes,
117 guides the choice, prejudices, tilts the movements of a society, is eminently a fact of
118 civilization. Much more than accidents, historical or social circumstances of an era, it is the
119 fruit of distant heritages, beliefs, fears, old concerns, often almost unconscious, an immense
120 contamination whose germs are lost in the past and handed down through generations and
121 generations of men. The reactions of a society to the events of the hour, pressures they
122 exert on it, obey less to logic, or even self-interest, and more to this unformulated
123 commandment, reeking of 'collective unconscious'. These core values, psychological
124 structures, are what isolates and distinguish e one civilisation from another. And these
125 attitudes are also little sensitive to the ravages of time. They vary slowly, transform
126 themselves only after long incubations.”³

127 Concerning the attitudes when faced with a dead body, it confirms the sayings of
128 Fernand Braudel and shows that the different concerns observed seem to be linked to the
129 distinct past of both parties. The eminent Swiss psychoanalyst Carl Jung wrote in *The*
130 *Undiscovered Self*, “But even though the first step ... may be the outcome of a conscious
131 decision, here, as everywhere, the spontaneous idea - hunch or intuition - plays an
132 important part. In other words, the unconscious collaborates too and often makes decisive
133 contributions. So, it is not conscious effort alone that is responsible for the result;
134 somewhere or other the unconscious, with its barely discernible goals and intentions, has its
135 finger in the pie.”

136 Indeed, it highlights a concern related to physical integrity of the deceased and to a
137 socio-religious aspect among Beninese students. This process comes from the persistent
138 ancestral beliefs, born in the voodoo past of Benin, that observes a particular relationship to
139 the deceased, where the dead can still interact with the living world. In this context, the

140 physical and social integrity must be conserved after the forensic work, and during the
141 funeral ceremonies. Then, the importance of affiliation, and of belonging to a family and
142 community, is significant among Beninese students where the body must be returned in its
143 entirety so that the spirit of the deceased does not seek revenge. Indeed, in Benin "full
144 respect for the dead is the rule because they still have a more or less negative power against
145 people living and / or the rest of the community"⁴. Thus, two purification ceremonies, before
146 and after autopsy or dissection work, are undertaken so that the bodies do not discharge
147 negative energy on practitioners. To respect all religious practices in the country (mainly
148 Voodoo, Islam and Christianity), dissections are done on a voluntary basis, unlike in France,
149 where it's relatively mandatory. If forensic autopsy also has a mandatory aspect in Benin,
150 scientific autopsies are rare maybe due to the fact that physicians belong to communities for
151 which physical integrity of the deceased are particularly important.

152 The West Paris students seem, on the contrary, more detached from the body,
153 treating it more as a means of learning without interaction. They seem afflicted with so-
154 called "scientific coldness". The French concerns are religious, with more focus on the
155 circumstances of death and the belief that the ancestral concept of good or bad death
156 determines the place of the soul and the promise of a physical reconstruction in the afterlife
157 but also scientific with the vision of the dead body as a teaching support. This attitude finds
158 an explanation, at first, in the long history of medicine with various schools of thought;
159 mechanistic with Descartes in the *Discours de la méthode* and his doctrine of the man-
160 machine⁵, technician / positivist with Auguste Comte⁶ or sacred with Saint Augustine which
161 testifies that God will repair physically damaged human being. Thus, the Church has always
162 accepted autopsies and dissections because the bodies will be recovered at the time of the
163 resurrection. It also appears that this recoil from emotion comes from a need to protect

164 themselves, and to maintain their objectivity and concentration on this technical work. Once
165 dead, the person needs less empathy as opposed to living people who will benefit from
166 more empathy, respect, and attention from doctors. The necrophobic rituals and beliefs
167 inherited from our ancestors of the Greco-Roman antiquity, then, appear to have gradually
168 faded.⁷

169 The students of the Faculty of Medicine of the University of Parakou come from all
170 strata of society. Whatever their social level, the individual belonging to a community must
171 respect the rites and attend the funeral ceremonies. The cult of the dead, deeply rooted
172 within these populations, remains the cement uniting the individuals within a family, a
173 community, a village, and even a whole ethnic group. This rooting remains a bulwark against
174 certain pathologies of the modern world such as loss of moral values and social norms, the
175 dislocation of families, etc. Over time these Parakou medical students will reasonably get
176 used to autopsies. It will be an unconscious compromise between the cultural and scientific
177 aspects of their personalities.

178

179

180 **References**

181

182 1. Hippocrate, *Airs-Eaux-Lieux*. Jouanna J (dir. ed.). Paris, Les Belles Lettres, 1996.

183 2. Birdi K, Bunce D, Start RD, Cotton D. Clinical beliefs underlying autopsy requests. *Postgrad*
184 *Med J*. 1996;72:224-8.

185 3. Braudel F. *Grammaire des civilisations*. Paris, Flammarion / DL, 1987.

186 4. Charlier P, Brun L, de la Grandmaison GL, Hervé C. Medical students from Parakou (Benin)
187 and West-African traditional beliefs on death and cadavers. *Afr Health Sci* 2012;4:443-5.

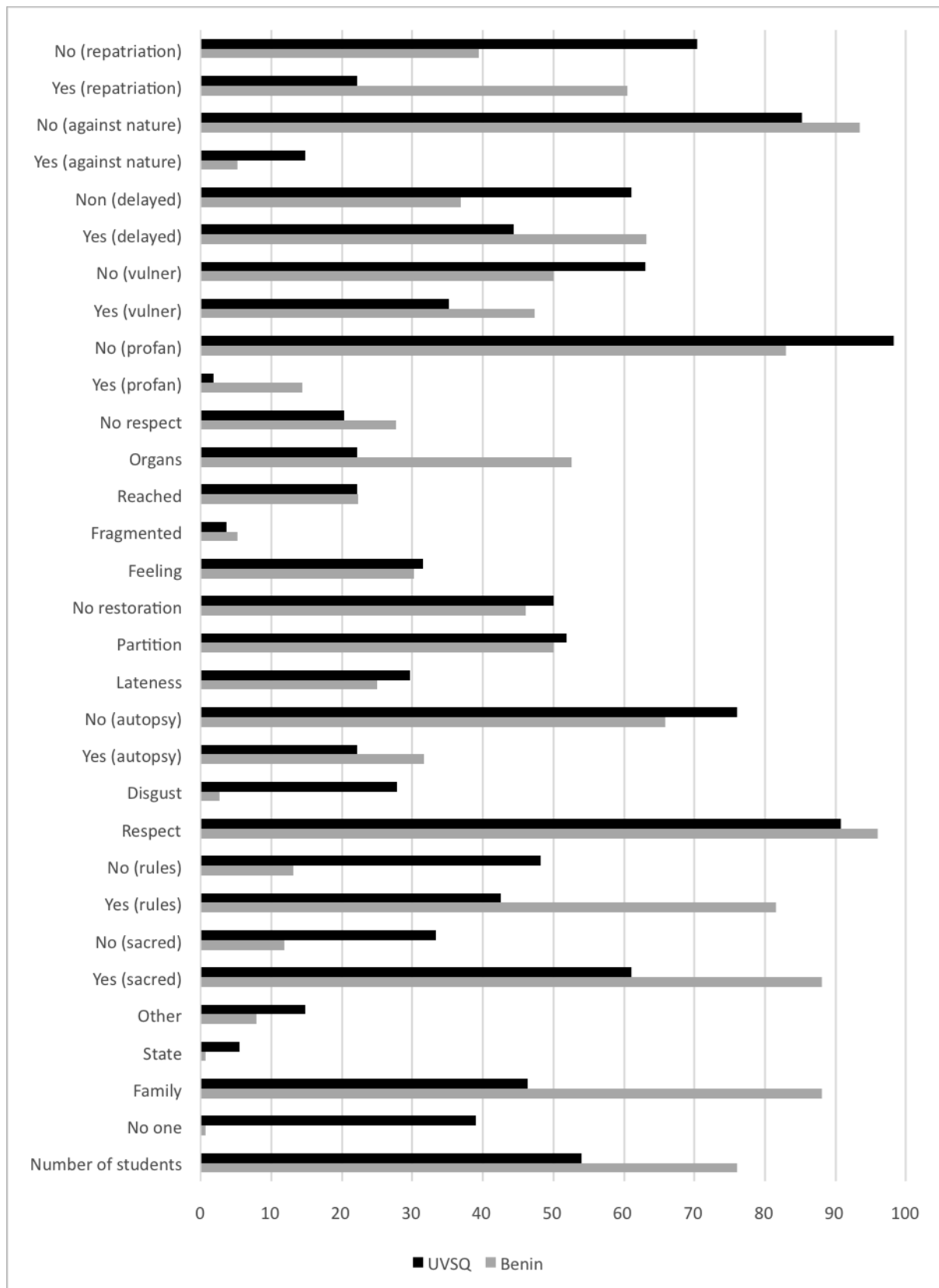
- 188 5. Descartes R, *Discours de la méthode*. Paris, Vrin, 1984, p. 146
- 189 6. Mill JS. *Auguste Comte et le positivisme* (5th edition). Paris, 1993, p. 200.
- 190 7. Charlier P. *Male mort. Morts violentes dans l'Antiquité*. Paris, Fayard, 2011.
- 191 8. Jung, C. *The Undiscovered Self*. London, Routledge, 2012, p. 70.
- 192
- 193

194

195 **Conflict of interest**

196 No conflict of interest to declare for all authors.

197



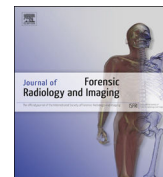
AUGIAS A., BENMOUSSA N., JACQUELINE S., NOGEL JAEGER J., MULLER A.L., CHARLIER P. Haitian voodoo dolls revealed by X-ray : From radiology to medical anthropology. *Journal of Forensic Radiology and Imaging* 2015 ; 3 : 221-225.



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Forensic Radiology and Imaging

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jofri

Pictorial Review

Haitian voodoo dolls revealed by X-ray: From radiology to medical anthropology



Anaïs Augias^a, Nadia Benmoussa^{a,b}, Sophie Jacqueline^a, Julie Nogel Jaeger^a,
Anne-Laure Muller^c, Philippe Charlier^{a,*}

^a Section of Medical and Forensic Anthropology (UVSQ/Paris Descartes University EA 4569/AP-HP/CASH Nanterre), UFR of Health Sciences, 2 avenue de la Source de la Bièvre, 78180 Montigny-Le-Bretonneux, France

^b Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Rouen University Hospital, Rouen, France

^c Department of Radiology, Saint Camille Hospital, 2 rue des Pères Camilliens, 94360 Bry sur Marne, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 9 September 2015

Received in revised form

20 October 2015

Accepted 4 November 2015

Available online 6 November 2015

Keywords:

Forensic imaging

Ethnographic artifacts

Art autopsy

ABSTRACT

Objectives: The aim of our study was to carry out the radiographic examination of seven dolls recently collected in the central cemetery of Port-au-Prince (Haiti). These dolls and evidence obtained can be used as a psychological tool to aid in victimological forensic analysis. This can improve our knowledge of magical-religious rituals of Haitian voodoo.

Materials and methods: Radiological examination was performed on these ethnographic objects through X-Ray using a flat panel detector Primax Clisis©. Furthermore, an additional observation was performed using a microscope (Leica EZ4 HD©). All X-ray images have been read on plain film and on a diagnostic workstation by both a medical anthropologist and a radiologist.

Results: These studies bring to light many objects inserted into the voodoo dolls, such as needles, zippers or buttons, while direct observation by microscope confirmed the insertion of human hairs. Linking such discoveries with the current data of traditional Haitian voodoo allowed us to better understand the use, purpose, and fabrication process of these dolls.

Discussion: Medical imaging is essential for the understanding and interpretation of these rituals, and brings knowledge to medical anthropology, especially since there is not much data on this sorcery practice, which is prohibited and punishable by the Haitian law.

Conclusion: The use of forensic tools, such as radiography, on Haitian voodoo artifacts is unprecedented, as is the introduction of this kind of ethnographic objects in the forensic field of victimology.

© 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Contents

1. Introduction	221
2. Material and methods	222
3. Results	222
4. Discussion	224
5. Conclusion	224
Acknowledgments	225
References	225

1. Introduction

Haitian voodoo originates from mixing ethnic black African, such as Benin and Bantu groups, which is focused on the deportation of slaves towards the island of Santo Domingo since the 16th century [1], where it has evolved in parallel with the original

* Correspondence to: (APHP-UVSQ/EA 4569 Paris-Descartes/CASH de Nanterre), Equipe d'anthropologie médicale et médico-légale, UFR des sciences de la santé, 2 avenue de la source de la Bièvre, 78180 Montigny-le-Bretonneux, France.

E-mail address: Philippe.charlier@uvsq.fr (P. Charlier).

homeland. The objects charged with negative occult power [2], called *ouangas* and manufactured in Africa, are found in Haiti, but in an endemic doll form.

Not enough data is available on the taboo activities that are officially punished by Article 405 of the Haitian Penal Code: “All makers of *ouangas*, *caprelatas*, *voodoo*, *donpèdre*, *makandals* and other spells, shall be punished with three to six months' imprisonment and a fine of 60 to 150 gourdes [Haitian currency] by the police court, and in case of recurrence of imprisonment of six months to two years, and a fine of 300,000 gourdes by the court” [3].

For the spell of a doll to successfully work, it requires the acquisition of material belonging to the person such as hairs, nail clippings or clothes, obtained through a network or with the help of accomplices, such as relatives. More importantly, it may be accompanied by more serious acts, including murder.

The knowledge of such practices is therefore based on ancient and modern ethnographic stories, which are often romanticized, and oral testimonies. This animistic religion is performed by two kinds of priests, serving the deities named *loas:houngan*, i.e. a priest serving well, and *bokor*, i.e. serving “with both hands,” which means that they have chosen to also serve evil. Such priests are considered as healers, bone-setters, fortune tellers, and special intermediaries between gods and humans. A *bokor* also has the ability to cast a spell and consecrate *ouangas*.

These objects are in the image of a dual system. Seabrook [4] reports the existence of *ouangas* of love and hate, *ouangas* of birth, protection or death. The objects, whether for good or evil, will use the same processes. They need intimate objects of the person, such as a strand of hair, nail clipping, or a piece of clothing stained with sweat or fat. During the making of his beneficial *ouanga*, Seabrook explains the course of the ceremony: “a red cloth square, which was to serve as an envelope of the *ouanga*, was placed at the center of the room. Besides, there were yellow and red ribbons and feathers dyed in brilliant colors. Leaves of Balsam and castor, and lime roots were arranged around in little piles. Flour saucer, another ash, a bottle of white rum, a bottle of perfume and a small iron crucifix complemented the device of the ceremony. The priest took some leaves and roots, charred on a burning fire and pulverized together in a mortar. The *bokor* filled his mouth and splashed *clairin* spitting all accessories...”. Finally everything was wrapped in the red fabric after various prayers.

As previously stated, these dolls can be associated with more serious acts, such as subtle poisoning or murder. This is evidenced by the following excerpt: “They made a collection in the village and, with the money and shirt of Ti-Joseph [stolen during the night by an accomplice], some men went to another *bokor* living in Trou Caiman, who made a death *ouanga* in a black bag, mixing together pierced needles, rubbed with goat droppings and wrapped with rooster feathers soaked in blood. Moreover, in case the *ouanga* weakened by magic against Ti-Joseph, would not be fast enough, they sent strong men in plain, waiting for Ti-Joseph, and cut off his head one evening with machetes” [4].

These ethnographic data allowed the ability to distinguish between the evil and the beneficial anthropomorphic *ouangas* through the possible use of cloth in various colors, such as black and red, but also through the type of ceremony with the use of droppings and blood applied to this *ouanga* on one side and aromatic leaves and roots on the other.

2. Material and methods

Seven voodoo dolls have been collected from the Central Cemetery of Port-au-Prince during the month of November 2014 by one of the authors (P.C.) during an anthropological survey



Fig. 1. In situ voodoo dolls (surface of a modern grave within the central cemetery of Port-au-Prince, Haiti).

(Fig. 1).

They have been examined by radiography using a flat panel detector Primax Clisis©. An a.p. X-ray image was obtained for each doll at 50 kV. All X-ray images have been read on plain film and on a diagnostic workstation by both a medical anthropologist and a radiologist. A complementary examination of organic remains was carried out using binocular lenses (Leica EZ4 HD©).

3. Results

These *ouangas* with schematic anthropomorphic forms are all conducted from a front and back piece of fabric, which are sewn together with pink, white or black yarn. There are three dolls made of black fabric, two of red fabric and the last of white fabric. We have five separate dolls and a duo. With previously collected data, the group may already be split according to their appearance and choice of fabric use, such as the dolls made of red fabric and the ones made of black fabric, including the duo.

This duo (Fig. 2) consists of dolls made from white and black fabric (measuring 24.5×12 cm and 20×9.5 cm) without apparent sexual sign. This leads to several interpretations that require consideration. Perhaps these dolls signified a couple, a father/son, or siblings. Only the size and girth can give an indication on a sex ratio. The white doll is the larger of the two people portrayed. These two entities are tied by the legs using a white cord. A black fabric also binds this duo, which is fixed through the white cord but with two needles attached to one leg of each individual. Several needles piercing the duo and the fabric are visible on the surface.

The two black sewn dolls are made of black tissue and pink stitching (Fig. 3). One of these measures 17×11 cm² and has the right leg bent which, as a consequence, is shorter than the other. Perhaps this is due to a physical anomaly, such as a chronic disease or abnormality of the leg, and may have been present on the target victim. It is also possible this may simply be a clumsy, unintentional mistake in fabrication of the doll. Black hairs have been added at the top of the head and at the insertion of what appears to represent a penis. The hairs have been confirmed by a direct



Fig. 2. The duo white and black voodoo dolls.



Fig. 3. Two blackish voodoo dolls with pink stitching.

binocular lenses examination to be of human origin (Fig. 4). The second black doll measures 14×11 cm. It seems to be representing a woman, as no penis is portrayed. Both dolls have a very dirty surface in common that is reminiscent of the application materials cited by Seabrook.

Radiography has allowed the discovery of unexpected elements. For the couple (Fig. 5), it is possible to count a total of 58

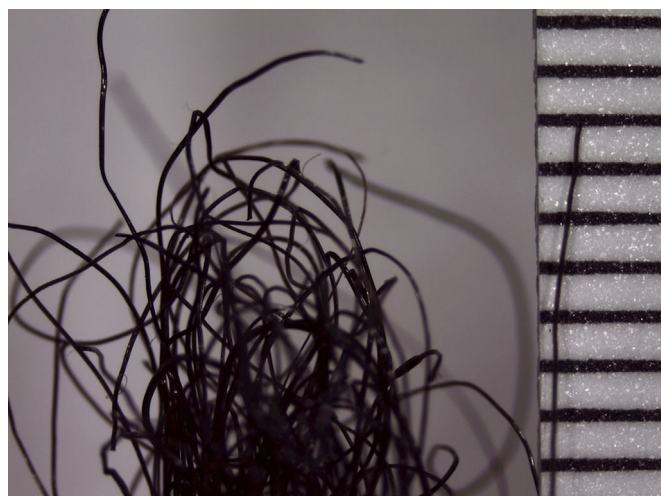


Fig. 4. Microscopic examination of black doll hair (magnification $\times 40$).



Fig. 5. Radiography of the duo white and black voodoo dolls.

needles, which breaks down to 20 for the white doll, 33 for the black doll and 5 for the fabric. For the male subject, radiography reveals inside the filling of the same leg, a button inserted in the thigh or the right side, which could be used to refine the identification of the target subject (Fig. 6).

Regarding the two dolls made from red cloth (Fig. 7) (measuring 19.5×14 cm² and 15.5×13.5 cm), they represent two men of different size. Here, again, with the addition of hair and/or facial hair displayed on the skull and genitals of the dolls. The smallest doll has a black spot on the face, which can be the result from participation in a possible ritual during the spell, a flaw during the production, or an accident. Radiographically, only the latter has a deposit in the filling, which is a staple (Fig. 8). No area of application is distinguished on the surface, which can confirm the

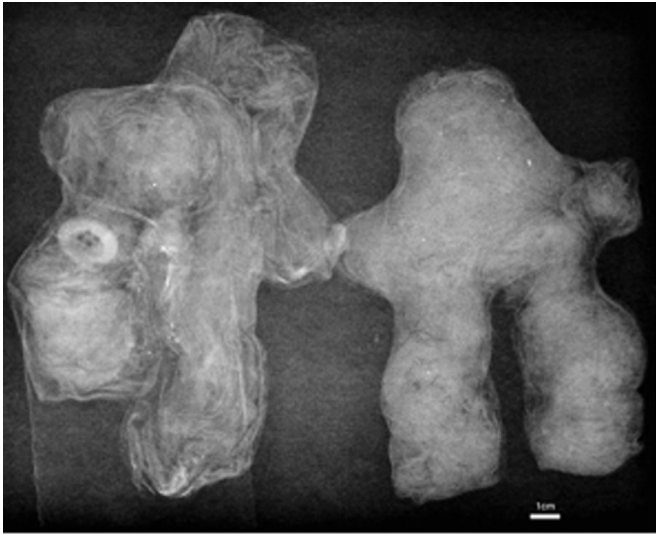


Fig. 6. Radiography of the two voodoo dolls with pink stitching.



Fig. 7. Three red voodoo dolls. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

positive application of these dolls.

The last doll (measuring 22×12.5 cm) has a different profile than the others (Fig. 7) in the sense that it is made of two fabrics of different colors, where the posterior face is black, while the front is red. The representation of the woman's hips is clearly marked, and a subsequent application of hair in the pubis leads to the conclusion that the doll represents a woman. The radiograph shows the presence of two separate zippers or two fragments of the same



Fig. 8. Radiography of the three red voodoo dolls.

side of a zipper (Fig. 8). The surface is immaculate on both sides and no “malicious” action is distinguishable. The interpretation of the latter is more complex and raises many questions; should we see the representation of the union of two extremes in the image of “a blessing in disguise”? The presence of zipper elements inside of the doll could constitute a love charm which join and hold two things together.

4. Discussion

The use of radiography will allow a better understanding of contemporary or old objects, to confirm or deny the old data, but above all, demonstrates the interest of introducing forensic techniques in ethnology and archeology [5]. This will allow the “autopsy” of the artifact with obvious respect for its integrity through non-destructive and non-invasive techniques.

In this case, X-rays brought a new clarity to Haitian magical-religious practices, and especially new fields of research, such as chemical analysis to know the elements used or applied. Also, the radiographic analysis raised questions, for example, about the evil role of each doll and the meaning of the fabric used. Were both entities only bewitched and not used, or were they made in order to harm and not to kill, the reverse of the couple?

Conventional radiographical and CT-scan examinations of museum and ethnographical objects are becoming more frequent. The implication of medical practitioners, such as forensic anthropologists and radiologists, will increase within the next few years, in a context of expertize and repatriation process. Such results are important to know for future comparison and analyses.

5. Conclusion

The observation of damage of a victim by biomedical tools of forensics can then be applied on both physical trauma but also on

the indirect and psychological weapons such as are these dolls. The process of analyzing of a cultural artifact as a spiritual weapon is unprecedented in the field of victimology, and takes a full part of any judicial procedures. The characterization of the fabrication process of voodoo dolls is of great interest for the legal investigation, as parts of the victim's body (hairs, nails) and clothes are included in these artifacts. They could be assimilated to a profanation of the human body's integrity, and be an aggravating factor for sorcery activities. To an ultimate degree, the making of such an artifact in the practicing voodoo Haitian populations, can lead to an assassination, and could then represent an evidence of premeditation.

The study highlighted a cultural practice that is realized to be more complex with the use of various materials not visible to the naked eye, which show a proper vocation for each victim.

Acknowledgments

We thanks Britta McMullan, formerly with the North Carolina State University Forensic Anthropology Graduate Program, for proof-reading and correction of this article and we also thanks Charlotte Antoine, for her help during the analysis process.

All authors warmly thanks the late Ati Max Beauvoir for his

considerable help in the interpretation of these artifacts, and the writing of this paper.

References

- [1] L. Hurbon, *Sorcellerie et pouvoir en Haïti*, Arch. Sci. Soc. Relig. 48 (1) (1979) 43–52.
- [2] G. Joint, *Libération du vaudou dans la dynamique d'inculturation en Haïti*, Pontificia Università Gregoriana, Rome, Italie, 1999.
- [3] J. Kerboull Merlo, *Une enquête sur le vodou domestique en Haïti*, Rev. Fr. Hist. Outre Mer. 218 (60) (1973) 131–132.
- [4] W. Seabrook, *L'île magique: les mystères du vaudou*, J'Ai Lu, Paris, France, 1974.
- [5] P. Charlier, *Zombis Enquête anthropologique sur les morts-vivants*, Tallandier, Paris, France, 2015.

AUGIAS A., PEGOURIE J., HUYNH-CHARLIER I., CHARLIER P. Virtual autopsy of a funeral *Muzidi Bembe* doll : interest of imaging for analysis of primitive art object. 6^e *Colloque International de Pathographie* 2015 : 167-172.

AUGIAS A.⁽¹⁾, JACQUELINE S.⁽¹⁾, PEGOURIE J.⁽¹⁾,
HUYNH-CHARLIER I.⁽²⁾, CHARLIER P.⁽¹⁾

VIRTUAL AUTOPSY OF A FUNERAL *MUZIDI BEMBE* DOLL : INTEREST OF IMAGING FOR ANALYSIS OF PRIMITIVE ART OBJECT

AUTOPSIE VIRTUELLE D'UNE POUPÉE FUNÉRAIRE MUZIDI BEMBE : INTÉRÊT DE L'IMAGERIE MÉDICALE POUR L'ÉTUDE DES OBJETS D'ART PREMIER

Abstract

The aim of our study was to carry out the radiographic examination of a funeral doll from the Democratic Republic of Congo named *Muzidi*. The goal is to improve our knowledge of magical-religious rituals of Central Africa. Radiological examination was performed on this ethnographic object through X-Ray using a flat panel detector Primax Clisis©. All X-ray images have been read on plain film and on a diagnostic workstation by both a medical anthropologist and a radiologist. These radiographic and macroscopic studies bring to light many undetermined objects inserted into *Muzidi* and some surface modifications. The symbolism of the studied *Muzidi* makes us ask questions about the origin of this practice, and of the doll itself, by linking such discoveries with the ethnographic data to understand the use, purpose, and fabrication process of this artifact and the potential connection between ethnic groups. Medical imaging is essential for the understanding and interpretation of these rituals, and allows us to distinguish potential commercial and traditional links between ethnical groups.

Résumé

L'objectif de notre étude était de réaliser l'examen radiographique d'une poupée funéraire de la République démocratique du Congo, nommée *Muzidi*, afin d'améliorer notre connaissance des rituels magique-religieux de l'Afrique centrale. Un examen radiologique a été effectué sur cet objet ethnographique à l'aide des rayons X du détecteur Primax Clisis©. Toutes les images de rayons X ont été lues et diagnostiquées par un anthropologue médical et un radiologue. Ces études radiographiques et macroscopiques mettent en lumière de

¹ Equipe d'Anthropologie Médicale et Médico-Légale, UFR de Sciences de la Santé (UVSQ, AP-HP), 2 avenue de la source de la Bièvre, 78180 Montigny-le-bretonneux, France.

² Département de Radiologie, CHU Pitié-Salpêtrière (AP-HP), boulevard de l'hôpital, 75013 Paris, France.

nombreux objets indéterminés insérés dans la poupée *Muzidi* ainsi que certaines modifications de surface. La symbolique de la *Muzidi* étudiée nous amène à remettre en question l'origine de cette pratique et de la poupée elle-même, en reliant ces découvertes aux données ethnographiques pour comprendre l'utilisation, le but et le processus de fabrication de cet artefact et le lien potentiel entre les groupes ethniques. Ainsi, l'imagerie médicale est essentielle pour la compréhension et l'interprétation de ces rituels et nous permet de distinguer les liens commerciaux et traditionnels potentiels entre les groupes ethniques.

Introduction

Central Africa, specifically countries like Cameroon, the Democratic Republic of Congo, Nigeria, and Chad, is characterized by the ethnical multiplicity spread in groups or subgroups which have many animistic traditions represented by a large collection of deities. However, when we look at some practices, and especially funerary practices, we observe that a common nucleus related to the ancestral cult link these communities. Traditional myths say that the first human being, named *Mahungu*, was a complete being with both genders and was a duplicate of God possessing all of the deity's knowledge. *Mahungu* "proved to be irresponsible, god withdrew and allowed human beings to suffer without his constant attention and care", but with pity, God granted them death so they could return and become a God (1). The ones who succeeded, by effort and will, became a new *Mahungu*. Owing to their supposed closeness to God, the deceased must be honored.

To honor a powerful decedent, but also to assure protection and prosperity of the community, the *Bwendé* group makes *Niombos*. *Niombos* are big funeral figures created by wrapping the full body of the deceased, previously dried, in several layers of tissue until it is upwards of three meters high. This practice is also made in a medium model (1). So, among *Bembé*, people from the Democratic Republic of Congo qualified, according to the ethnical maps, as a group or subgroup of the Kongo group (2). To these people, it is important to honor the ancestors, which hold an important place in *Bembé* traditions (3), by using funeral dolls called *Muzidi* (*Muziri* or *Mudziri*). These artifacts are anthropomorphic reliquaries of textile which provide protection, as well as unity of family or community members around an old spirit in cases of need, by the conservation and preservation of relics, such as nails, hair, and skin, of a decedent deemed powerful, like a respected chief, a wise sage, or a fruitful woman. These effigies must be able to move because its movements are interpreted as an answer to a question asked. The procurement of the relics is performed by a diviner-healer named *nganga*, after the burial, during the *Kitu* ceremony where the body is exhumed. The time between the burial and the exhumation can vary from a few days to one year.

These *Bembé* reliquaries are brought to the *nganga* and can be made in advance and sold, or made at the request of the family or of the deceased himself. The *Bembé Muzidi* are decorated with pearls and adorned with necklaces and made with red or blue fabric of European origin. The use of imported materials supposedly adds

some prestige to the *Muzidi*, which is a way to further honor the deceased, but also to assure the protection of the familial lineage or community. The importation of materials from other African areas, like the *Kasai* velour, is also honorific for the deceased and used for *Muzidi* fabrication (4). Apart from their general position which is seated with the torsos and the limbs extended (5), the choice of the colors, and the type of relics used, little is known about the exact fabrication process of the *Muzidi* remains and little is written in the ethnographic data. We will try to obtain this knowledge through biomedical tools, like radiography, as was done for Voodoo dolls (6).

The ethnical artifact and the medical tool



Fig. 1 to 4 :
*The Muzidi
Bembé doll.*

The *Muzidi Bembé* (Fig. 1 to 4), composing the corpus of our study, come from a private collection, and have been examined by CT-Scan and radiography using a flat panel detector Primax Clisis©. An a.p. X-ray image was obtained at 50 kv. All X-ray images have been read on plain film and on a diagnostic console by both a medical anthropologist and a radiologist. The studied *Muzidi*, 32 centimeters tall, is presented in seated position with the head oriented downward, upper and lower limbs stretched and joined at the ends. The *Muzidi* is made of brown fabric. However, a dark ocher was used for the head and for two coverings on the left arm and the back of the *Muzidi*. The different parts representing the arms, the torso, and the legs are sewn to each other. Only a necklace of woven straw, resembling a rope, is affixed as ornamentation. The mouth and ears are represented by a wrap fabric sewn onto the head surface. Some depictions resembling sexual attributes are observed at the chest and the crotch.

The CT-Scan images show a rigid vegetal filling and the presence of items within the filling. The first item (6.6 mm X 5.6 mm and 2.9 mm thick) located at the cephalic end (Fig. 5) present an arched shape. Although weak, its density is evaluated around 338 UH. The second item (2.6 mm thick and 5.3 mm long) seems fragmented (Fig. 6) and is located in the left arm of the *Muzidi* with a density around 341 UH. Although the reduced dimensions prevent a 3D reconstitution, the weak density and the morphology of these deposits in the filling exclude the hypothesis of bone or metallic items. However, it could be nails or little items belonging to the decedent. Furthermore, although the potential presence of hair cannot be distinguished, it cannot, however, be excluded. *Muzidis* are generally composed of a wooden armature and a filling made from banana tree leaves, fibers, and liana vines. The firmness of the *Muzidi* and the morphology of the filling observed during the CT-Scan show us that it cannot be a cotton filling, but the rigidity and its fibrous appearance confirm the potential presence of leaves and lianas. At last, the CT-Scan images have shown no wooden armature.

From the virtual autopsy to the ethno-anthropological proofreading

The sexual diagnosis is not evident considering the frequent absence of sexual features and the occasional anthropo-zoomorphic aspect of some *Muzidis*. The fabric used doesn't seem to be a piece of cloth belonging to the deceased and doesn't take part of the strict identification process (5), but does seem to allow a sexual distinction thanks to the usage of dark blue which is the traditional color of *Bembé* men (7).

In the context of the studied *Muzidi*, the sex determination is complex; the little protrusions present on the chest seems to be similar to a young chest that has not breastfed, but the presence of a potential phallus on the lower abdomen can however lead to the interpretation of a hermaphrodite case. Indeed, in the *Kongo* mythology, the distinction between man and woman was done after the split of

Mahungu, the first human being who was unique, complete, the equal of God with both genders (8). The *Muzidi* can be a tribute to the punishment of *Mahungu*. However, it's important not to draw hasty conclusions: a possible hypothesis regarding the association of two opposite sexual features would be that the *Muzidi* was made for a person with an umbilical hernia, which could justify the lower abdomen outgrowth. In the case where it would be a man, the chest lumps could represent, by their small size, a male chest.

The position and the color of the *Muzidi* also pose some questions because, like their neighbors, the *Bwendé*, these funeral dolls are in a rather cheerful posture, standing (sometimes seated) with the right arm up to the sky, the other arm pointing to the earth and made from bright colored fabric. The studied *Muzidi* stands out because of the sober fabric used and by its position, which shows a state of muscle weakness. As previously said, the *Muzidi* must not be static because it should be able to move when used in cases of consultation. The peculiarity of the studied *Muzidi* is the union of the upper and lower limbs which prevent mobility. The association of the position, the absence of ornamentation, and the presence of a rope around the neck can suggest an enslavement or detention posture, like the execration statues.

These questions about the position and the fabric color of the *Muzidi* could be answered by referring to the funeral dolls of the *Fali*, who are a North-Cameroon people belonging to the big *Kirdi* group. Several similarities link both traditions: the use of drab fabrics and the absence of ornamentation, with the exception of some cowries to form the face or the headdress. The position of the *Muzidi* is also reminiscent of the deceased posture of *Fali* entombments, named *gébus* (9). The bodies were wrapped with cotton and beef bands, and put in tombs with tronconic form in seated posture, forward extended legs and arms, and with the head in goat remains. These similarities can allude to the possibility of commercial exchanges between *Fali* and *Bembé* groups, perhaps with the purchase and reuse of a *Fali* doll by a *nganga Bembé*. This hypothesis of commercial exchanges is confirmed more by the presence of dark ocher fabric at the exact same places than the presence of items in the filling. So, the *nganga Bembé* could buy a funeral doll from the *Fali* people, perhaps making some cavities in the fabric or changing the head to insert relics from the deceased inside the filling. Considering the absence of items at the back where a covering is present, we can imagine that the purpose of this opening is to insert hair or some relics not visible by the CT-Scan, or to change out part of the filling. The cavities were closed by this new dark ocher fabric.

Conclusion

The use of biomechanical tools, and in this case, the radiographic and CT-scan examinations, was necessary to understand these kinds of ethnological artifacts. Indeed, this virtual "autopsy" allows us not only to preserve the integrity of the

doll, but also to create a new questions field, particularly about the origin of the artifact. By the macroscopic and radioscopic studies of the *Muzidi*, we were able to distinguish commercial exchanges between two groups geographically distant but traditionally close.

References

1. Bookie S, *Death and the Invisible Powers : The World of Kongo Belief*. Indiana University press, Bloomington, 1993.
2. Kitsimbou X. *La démocratie et les réalités ethniques au Congo*. Political science. Université Nancy II, 2006.
3. Vogel S (ed.). *For Spirits and Kings : African Art from Paul and Ruth Tishman Collection*. The Metropolitan Museum of Art, New York, 1981.
4. Aurélien Gaborit, *Muziri, mannequin funéraire Bembé, Congo*, Conférence du 09/01/11 au Salon de lecture Jacques Kerchache au Musée du Quai Branly.
5. LaGamma A, *Eternal Ancestors : The Art of the Central African Reliquary*. The Metropolitan Museum of Art, 2007.
6. Augias A, Benmoussa N, Jacqueline S, Nogel Jaeger J, Muller AL, Charlier P. Haitian voodoo dolls revealed by X-ray : From radiology to medical anthropology. *Journal of Forensic Radiology and Imaging* 2015 ;3 : 221–225.
7. Kuyk B.M, *African Voices in the African American Heritage*. Indiana University press, Bloomington and Indianapolis, 2003.
8. Kabasele Lumbala F, *Renouer avec ses racines : chemins d'inculturation*, Karthala Editions, Paris, 2005.
9. Gauthier J-G, Organisation des nécropoles et tradition orale : l'exemple du pays Fali Nord-Cameroun, *Bulletin et mémoires de la société d'anthropologie de Paris* 1990 ;2(3) : 201-207.

List of figure legends

Fig. 5 : CT-Scan of the Muzidi Bembé doll showing the item located at the cephalic end.

Fig. 6 : CT-Scan of the Muzidi Bembé doll showing the item located in the left arm.

Manquent les figures 5 et 6

CHARLIER P., JACQUELINE S., AUGIAS A., DEO S., BRUN L. En quoi un masque africain est-il un patient comme les autres ? *6e Colloque International de Pathographie 2015* : 183-192.

CHARLIER P.⁽¹⁾, JACQUELINE S.⁽¹⁾, AUGIAS A.⁽¹⁾, DEO S.⁽¹⁾,
BRUN L.^(1,2)

EN QUOI UN MASQUE AFRICAIN EST-IL UN PATIENT COMME LES AUTRES ?

WHY AN AFRICAN MASK IS A PATIENT LIKE ANY OTHER?

Résumé

Les masques africains sont-ils assimilables à des patients présentant des symptômes, des lésions pathologiques (notamment dermatologiques), des syndromes identifiables *a posteriori* ? À partir d'exemples tirés de l'Afrique noire sub-saharienne, on présente ici une vision nosologique et anthropologique médicale de l'évolution de ces artefacts remarquablement importants pour l'histoire de la médecine et des maladies.

Abstract

Are African masks comparable to patients with symptoms, pathological lesions (mainly dermatological), and eventual identifiable syndrome? Using examples from the black sub-Saharan Africa, we present here a medical nosology and anthropological vision of the evolution of these artifacts remarkably important for the history of medicine and diseases.

Introduction

Comment un masque peut-il véhiculer le souvenir d'une maladie, par exemple dermatologique ? Quelles que soient les civilisations, il y a toujours eu la possibilité, pour l'artiste ou l'artisan, de figurer avec un réalisme variable la réalité de ce qui l'entoure, à commencer par les lésions pathologiques de ses semblables. Les exemples sont innombrables [1] : céramiques Moche (Pérou), masque du rituel exorciste d'Ambellogoda (Sri Lanka), masque du théâtre de tradition hindouiste à Lombok (Indonésie), grotesque en terre-cuite hellénistique de Smyrne (Turquie), masque de carnaval à Cuzco (Pérou), etc. L'intérêt pour le médecin et l'anthropologue, est la possibilité de porter un diagnostic *a posteriori* sur des populations

(1) Equipe d'anthropologie médicale et médico-légale (UVSQ – EA 4569 Paris Descartes – CASH de Nanterre – APHP), UFR des Sciences de la Santé, 2 avenue de la source de la Bièvre, 78180 Montigny-Le-Bretonneux. philippe.charlier@uvsq.fr

(2) Laboratoire d'anatomo-pathologie, Université de Parakou, Parakou, Bénin.

pour lesquels la transmission du savoir et des connaissances passe par un média non écrit (légendes orales, statuaire, etc.). Dans le présent article, à partir de masques africains appartenant à une collection privée, on verra dans quelle mesure l'histoire de ces maladies a pu être reconstituée, et, au-delà de ces anecdotes pathologiques, s'il est possible de reconstruire une histoire naturelle de quelques maladies dermatologiques touchant la face dans l'Afrique sub-saharienne.

Particularités des masques africains



Fig. 1 : *Mascarade Bobo, ethnie Gourounsi, Burkina Faso, en contexte de fête des semailles (cliché Philippe Charlier).*

Les masques d'Afrique sub-saharienne doivent être appréhendés avec un regard très particulier, loin de celui de conservateurs de galeries d'art : sa vocation première n'est en rien artistique, c'est-à-dire qu'il ne recherche pas à être beau, ni cher, ni rare. Ce caractère esthétique et ce contexte de préciosité sont totalement impropres à la sculpture dite « négro-africaine » (et consécutives à l'ouverture vers le marché de l'art au décours de la colonisation occidentale). Hors de ce non-sens, donc, dans leur contexte original, les masques africains se veulent, dès le départ, pratiques, c'est-à-dire porteurs de sens et utiles à la communauté au sein de laquelle ils sont sculptés

[2]. Peu importe la précision anatomique ou la réalité pathologique éventuelle, ce qui est recherché avant tout c'est son côté utilitariste. Le masque a une fonction, un rôle à jouer dans la cérémonie, qu'elle soit individuelle (privée) ou collective (publique) (Fig. 1) comme l'exprime Ola Balogun : « l'un des principaux traits communs à l'ensemble de l'Afrique Noire, dans le domaine de la sculpture, est que les masques sculptés ne sont pas conçus pour être contemplés comme œuvres d'art, mais pour être utilisés à l'occasion de cérémonies rituelles, sociales ou religieuses » [3].

Les masques interviennent, de manière bénéfique comme néfaste, dans divers domaines de la société africaine (politico-religieux, culturel, économique) et sont soumis à la même hiérarchie. Ainsi, ils représentent et sont porteurs d'une force divine et humaine de la société. De la même façon qu'ils transmettent un message, une force, une action, ils peuvent aussi être marqués par les stigmates d'une population ou d'un individu bien particulier (épidémie ou sujet malade isolé). Par la pérennité du modèle de masque, d'une génération à l'autre, d'un village à l'autre, se transmet ainsi de façon chrono-culturelle, la mémoire de processus pathologiques qu'il importe au médecin et à l'anthropologue d'identifier avec la même précaution que celle s'imposant sur un patient vivant.

Démarche d'icône-diagnostic : une asymétrie de pigmentation cutanée



Fig. 2 : Masque mbangu, ethnie Pende, Congo (N° Inv. MAAM.2017.4.1, collection privée, cliché Vincent Gauvreau).

totaleffacés ou avoir été recouverts à l'occasion de restaurations itératives (qu'elle soit indigène ou hors-contexte). On pense par exemple à l'hémi-face blanchâtre des masques *mbangu* des Pende (Gabon) (Fig. 2). La légende originelle

Dès lors, comment appréhender la figuration de pathologies ou d'anomalies anatomiques sur les masques africains, notamment dermatologiques? D'abord, il faut considérer qu'une asymétrie de forme ou de couleur, un relief, un creux, une pigmentation, etc. ne doivent pas nécessairement être interprétés comme des signes absolument pathologiques. Il convient en effet de vérifier qu'il ne s'agit pas d'une maladresse de l'artisan, d'une restauration maladroite, ou d'une reprise du masque par une seconde main moins habile. Cette première étape de l'icône-diagnostic vise donc à éliminer la pseudo-pathologie, ce qui n'est pas toujours évident, surtout lorsque le masque est en mauvais état de conservation (fragmentaire, érodé, repeint). Ensuite, certaines pathologies ne sont figurées que sous la forme de pigments ajoutés à la surface du masque, qui peuvent s'être

est celle d'un guerrier valeureux et le plus beau de la communauté. Jalouse, une sorcière envoie sur lui une malédiction : pour certains, il s'agit de la « maladie blanche » (la lèpre) ; pour d'autre, il tombe dans le feu alors qu'il danse et se brûle l'hémiface (cicatrice dépigmentée sur peau noire) ; pour d'autres encore, il est victime d'une paralysie faciale transitoire (la coloration blanche figurant la partie malade du corps humain chez un sujet à peau noire, de façon symbolique, mais correspondant aussi à l'hypo-pigmentation séquellaire chez les mélanodermes en cas d'atteinte de l'épiderme profond) [4].

Hypotélorisme et microphthalmie



Fig. 3 : Masque okuyi, ethnies Punu, Gabon (N° Inv. MAAM.2016.25.1, collection privée, cliché Sophie Jacqueline)



Fig. 4 : Masque okuyi, ethnies Punu, Gabon (N° Inv. MAAM.0.103.1, collection privée, cliché Sophie Jacqueline)

Ce masque de l'ethnie Punu (Gabon) peut-il être un masque de maladie (Fig. 3) ? Quels syndromes peuvent être identifiés à l'aune d'une relecture médicale et scientifique contemporaine ? Dans cette communauté agro-pastorale, le rôle de ces masques *okuyi* était de subjuguier les esprits malfaisants de la forêt et de commémorer les défunts. Leurs sorties étaient dictées par des circonstances très diverses : événements néfastes (maladie isolée ou épidémie, deuil, funérailles, naissance monstrueuse), rites de réconciliation ou de justice (rétablissement de l'autorité du chef de village, résolution de conflits judiciaires ou de violence inter-individuelle),

rites de protection (recherche d'une influence positive des ancêtres ou des génies) ou de fécondité (naissance, virginité).



Fig. 5 : Porteur de masque Okuyi enlaçant un spectateur (cliché Michel Huet).

Les masques Punu classiques représentent les figures féminines d'esprits de défunts (Fig. 4). Ils rappellent les masques de théâtre Nô japonais porté par l'un des personnages principaux (le *Shite*) incarnant un fantôme, l'âme d'un mort, ou une entité venant de l'au-delà [5]. Le masque de l'*okuyi* fait référence à la femme ancêtre, il a pour vocation de relier les vivants aux morts tout en captant les forces occultes de ces derniers : rien ne doit être perdu, au risque d'être récupéré par les sorciers pour en détourner l'usage vers de mauvaises actions (mortifères) (Fig. 5). Ils sont caractérisés par une coiffure à coques reproduisant des nattes noires. Les pommettes sont haut placées et correspondent à l'idéal local de beauté

féminine. Les traits sont sereins, sans haine ni angoisse, traduisant le calme des anciens qui protègent et conseillent les vivants depuis le royaume des morts. Les yeux sont plissés, presque bridés, parfois clos, étirés en amande, apparaissent comme gonflés par le sommeil : ils peuvent figurer le sommeil éternel qu'est la mort mais aussi une particularité physique de la population Punu. La bouche, petite, peinte d'un rouge intense uniquement au centre « à la *geisha* » donne un aspect presque asiatique, tout comme les yeux. Une scarification frontale, cicatrice chéloïde volontaire, en forme de losange figure une écaille composée de neuf losanges représentant la cosmogonie des Punu, évoquant la notion de perfection et de sagesse. Le point central est le principal créateur qui a donné naissance aux quatre points cardinaux (le monde) et aux deux couples primordiaux (les humains). Ces neuf losanges peuvent également évoquer les neuf mères ancêtres primordiales des neuf clans matrilineaires Punu. On retrouve parfois cette scarification sur les tempes, avec les mêmes caractéristiques. Le visage est d'une couleur homogène blanche consécutive aux applications répétées de kaolin, une argile blanche riche en silicate d'aluminium, parfois mêlée de la poussière d'ossements humains... La couleur blanche déjà associée à la maladie, étant donné que les cicatrices sur peau noire sont fréquemment blanches en l'absence de recolonisation immédiate par les mélanocytes, est également liée à la mort. En effet, chez les sujets mélanodermes, après le décès, la décomposition et la putréfaction aboutissent à des décollements épidermiques diffus et d'aspect bulleux (phlyctènes) ; ces décollements progressifs

révèlent des chairs sous-jacentes blanches (la couleur *post-mortem* du derme). Cette couleur est celle du deuil dans de nombreuses civilisations [6]. Des masques Punu noirs existent aussi, bien plus rares, porteurs d'une fonction judiciaire, et sans référence directe avec le monde des morts [7].

Le masque pathologique est de forme plus arrondie (Fig. 4) ; on ne retrouve pas les scarifications temporales et frontales : peut-être l'individu, difforme, n'a-t-il pas subi l'initiation complète ? peut-être est-il exclu du clan, mais n'est pas pour autant dépourvu de sens vis-à-vis du reste de la communauté ? La couleur blanche, vécue comme lugubre et liée à la maladie et à la mort, est toujours présente. Ce masque présente également une microphtalmie et un hypotélorisme. S'il est impossible de porter un diagnostic certain sur l'individu figuré, il est en revanche possible de proposer des hypothèses syndromiques en rapport avec ces anomalies « cliniques » (Tableau 1). On n'a pas tenu compte de la couleur blanche de la peau, qui peut revêtir autant une réalité anatomique (albinisme, vitiligo, pityriasis versicolor, cicatrice achromique, etc.) que symbolique. Il est dans tous les cas certain qu'il ne peut pas s'agir d'une maladresse de l'artisan, mais plutôt d'une volonté délibérée de figurer « l'autre », un « autre » malade, déformé par la maladie, c'est-à-dire un sujet portant des signes envoyés par les dieux, sorte de message adressé aux humains, ou de messenger entre deux mondes (humain et divin, naturel et surnaturel).

Une représentation du noma ?



Fig. 6 : *Masque kran, ethnie Dan, Côte d'ivoire (N° Inv. MAAM.2017.4.1, collection privée)*

Ce masque de l'ethnie Dan peut-il évoquer les stigmates d'une maladie infectieuse (Fig. 6) ? Les membres de l'ethnie Dan vivent au Libéria et en Côte d'Ivoire. Selon eux, le monde est séparé en deux : le village et la forêt. Dans le village vivent les habitants ainsi que tout ce qu'ils créent, tandis que dans la forêt se trouvent les esprits. Pour les membres de la communauté, les esprits sont les propriétaires des terres, et les fondateurs des villages tiennent leurs pouvoirs de ses esprits. Les variétés de masques sculptées et leurs utilisations sont nombreuses. Le franchissement de la limite séparant ces deux entités peut se révéler dangereux. Les masques ne sont pas les représentations des esprits, ils sont littéralement les esprits. Les masques *kran* sont particulièrement reconnaissables, avec leurs reliefs dif-

formes voire terrifiants ; ils permettent de transmettre la volonté des ancêtres aux membres de la communauté lors des festivités, et veillent également sur les mères et leurs enfants. Plus ils sont effrayants, plus leur pouvoir sera redouté. Le masque présenté ici est caractéristique de l'ethnie Dan par sa forme concave, son menton pointu, et son front haut. L'hypothèse de la représentation des conséquences anatomiques du noma (stomatite gangréneuse foudroyante) au niveau de la bouche (*cancrum oris*) et du nez peut être évoqué à la vue de ce masque pour lequel ces zones anatomiques sont remplacées par un orifice unique grossièrement circulaire.

Big-bang theory

Pour chaque processus pathologique, quel a pu être le patient zéro ? Y en a-t-il seulement eu un ? Un raisonnement (ou questionnement) comparable à celui sur la naissance des mythes et des monstres de la mythologie gréco-romaine [8] peut être appliqué : le concept était-il présent dès l'origine pour n'être que validé ou confirmé par l'observation de sujets pathologiques ? Ou, *a contrario* sont-ce plutôt les observations pathologiques qui ont constitué autant de sources d'inspirations créatives sur lesquelles ont germé les figures de ces êtres fantastiques ? Comme le rappelle Paul Veyne, « il a fallu reconnaître qu'au lieu de parler de croyances, on devait bel et bien parler de vérités. Et que les vérités étaient elles-mêmes des imaginations. Ne nous faisons pas une fausse idée des choses : c'est la vérité des choses qui, à travers les siècles, est drôlement constituée. Loin d'être l'expérience réaliste la plus simple, la vérité est la plus historique de toutes [18] ».

Imaginaire, inspiration et expérience personnelle se mêlent ainsi pour transformer ces figures, génération après génération, artefact après artefact, par l'ajout ou la disparition de détails sous l'influence de nouvelles observations pathologiques, d'ailleurs pas forcément de la même maladie ni de sa même forme clinique !, ou de sa simple imagination. Les artisans ne sont en effet pas des médecins, et les confusions syndromiques, sinon les simples modifications de souvenirs ne sont pas rares, sources de complications pour établir un diagnostic rétrospectif. Nous proposons que cette filiation des masques puisse être établie comme une sorte d'arbre généalogique (Fig. 7) : à partir du « masque-mère » inspiré d'un sujet malade sans être pour autant l'exact portrait de cet individu, sont réalisés plusieurs masques inspirés du « masque-mère », mais sans être pour autant des copies conformes. Et ainsi de suite, de génération en génération, sachant que les masques peuvent s'influencer d'une génération à l'autre, et d'un artisan à l'autre, dans une sorte de « multiplication des masques » comparable à un phénomène de mutations successives, pour prendre appui sur un phénomène biologique (génétique).

« Masque-mère »

Ce patient zéro pourrait-il être un « masque-mère », pour paraphraser le concept ethnologique de « mère des masques » (*imina na*) développé par Marcel

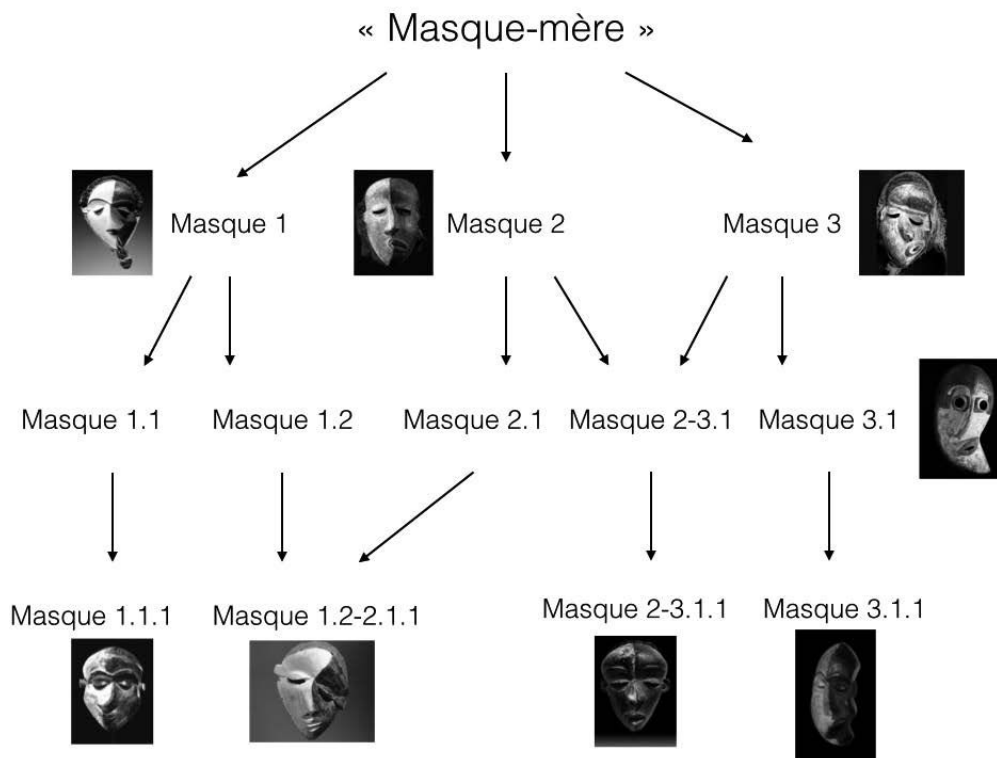


Fig. 7 : Schéma du concept d'arbre génétique des masques (cliché Philippe Charlier).

Griaule chez les Dogon de la falaise de Bandiagara (Mali) lors de sa mission Dakar-Djibouti (1933-1935). Découvert en 1931 dans une caverne à Sanga, le visage du masque reposant sur un ossuaire (comme un véritable défunt), cette immense lame de bois de plus de dix mètres de haut, désormais cassée en quatre fragments, représente le support de l'âme de l'ancêtre mythique Dyongou Serou, mort sous sa forme de serpent, d'où l'aspect extrêmement longiligne. Cette « lame » est sculptée à l'occasion du Sigui, cette fête qui ne se déroule que tous les 60 ans (la prochaine est en 2027 !), célébrant la révélation de la parole aux hommes mais aussi la mort de Dyongou Serou, le premier homme qui connut la mort. Après avoir été utilisée pendant les 7 années que dure cette fête vagabonde allant d'un village à l'autre, la « mère des masques » est conservée définitivement dans une grotte sacrée de la falaise, au milieu des morts [19].

L'importance des variations entre modèles de masques serait ainsi un marqueur d'ancienneté du « masque-mère » ou, du moins, de sa popularité, c'est-à-dire de la richesse de production de ses clones imparfaits. Ainsi, il serait possible de déter-

miner l'ancienneté de la présence de phénomènes pathologiques au sein de groupes hétérogènes par la simple observation d'une variabilité des modèles du même masque : cette épidémiologie, fondée sur des données d'icono-diagnostic, faute de sources écrites ou squelettiques/biologiques, permettrait de reconstituer l'histoire naturelle de processus pathologiques, qu'ils soient infectieux (noma), fonctionnels (paralysie faciale) ou génétiques. À terme, plus qu'un portrait de patient, le masque africain pathologique constitue peut-être plus le portrait d'une maladie, ou de l'idée qu'on s'en fait...

Tableau 1 : Syndromes responsables d'hypotélorisme et de microphthalmie

Nom du syndrome	Signes cliniques	Références
Translocation familiale 7-12	Face dysmorphique : occiput plat, os nasal absent, microphthalmie, hypotélorisme et narine unique	[8]
Anémie de Fanconi	Microcornée, microphthalmie, ptosis palpébral, courbures cornéennes abruptes	[9]
Ethmocéphalie	Proboscis, hypotélorisme, microphthalmie et oreilles malformées	[10]
Syndrome de microdélétion 3q	Microcéphalie, microphthalmie, epicanthus inversus, blépharophimosis, ptosis palpébral, brachycéphalie, face ronde, hypotélorisme, pont nasal étendu, nez à bec, oreilles grandes, fente palatine molle, rétromicrognathie à grande bouche	[11]
Holoprosencéphalie	Cyclopie, hypotélorisme, microphthalmie	[12]
	Lèvre et palais fendu, microcéphalie, hypotélorisme, microphthalmie, absence de nez	[13]
Trisomie mosaïque 9	Dolichocéphalie, hypotélorisme, microphthalmie, nez large à pointe bulbeuse, micrognathie, oreilles malformées	[14]
Syndrome de pseudo-trisomie 13	Microcéphalie, hypotélorisme, microphthalmie, nez rudimentaire plat avec une seule cavité nasale, oreilles dysplasiques épaisses	[15]
Mosaïcisme monosomie 18 / chromosome 18 circulaire	Cébocéphalie, hypotélorisme, microphthalmie	[16]

Références

[1] Grmek MD, Gourevitch D. *Les maladies dans l'art antique*, Paris, Fayard, 1998.

- [2] Himmelheber H. *Les masques africains*, Paris, Presses Universitaires de France, 1960.
- [3] Snow AI, Balogun O, Aguessy H, Dagne P. *Introduction à la culture africaine*, Paris, UNESCO, 1977.
- [4] Charlier P. *Autopsie de l'art premier*, Monaco, Ed. du Rocher; 2012.
- [5] Nishino A. *Paul Claudel : le nô et la synthèse des arts*, Paris, Classiques Garnier, 2013.
- [6] Charlier P. *Médecin des morts : récits de paléopathologie*, Paris, Fayard, 2006.
- [7] Falgayrettes-Leveau C. *Chefs-d'œuvre d'Afrique : dans les collections du Musée Dapper*, Paris, Musée Dapper, 2015.
- [8] Tezcan B, Bredaki FE. Prenatal diagnosis of rare familial unbalanced translocation of chromosomes 7 and 12. *Case Rep Obstet Gynecol* 2015 ;905-946.
- [9] Törnquist AL, Martin L, Winiarski J, Fahnehjelm KT. Ocular manifestations and visual functions in patients with Fanconi anaemia. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 2014;92 :171-178.
- [10] Das G, Gayen S, Bandyopadhyay S, Das D. Ethmocephaly with amniotic band syndrome. *Middle East Afr J Ophthalmol* 2012 ;19 :429-431.
- [11] Ramieri V, Tarani L, Costantino F, Basile E, Liberati N, Rinna C, et al. Microdeletion 3q syndrome. *J Craniofac Surg* 2011 ;22 :2124-2128.
- [12] Pineda-Alvarez DE, Solomon BD, Roessler E, Balog JZ, Hadley DW, Zein WM, et al. A broad range of ophthalmologic anomalies is part of the holoprosencephaly spectrum. *Am J Med Genet A* 2011 ;155A :2713-2720.
- [13] Durmuş Aydoğdu S, Yakut A, Oner U, Akşit MA, Tel N. Holoprosencephaly anomaly with nasal and premaxillar agenesis (possibly autosomal recessive type). *Turk J Pediatr* 1994;36 :157-162.
- [14] Sánchez Zahonero J, Andrés Celma M, López García MJ. Mosaic trisomy 9 : report of a new case with a long-term survival. *An Pediatr Barc Spain* 2003 2008 ;68 :273-276.
- [15] Ahmet D, Bahri E, Mustafa A, Varim N, Tunc T. Pseudotrismy 13 syndrome : a case with left ventricular hypoplasia and duodenal stenosis. *Clin Dysmorphol* 2006;15 :41-42.
- [16] Eiben B, Unger M, Stoltenberg G, Rutt G, Goebel R, Meyer A, et al. Prenatal diagnosis of monosomy 18 and ring chromosome 18 mosaicism. *Prenat Diagn* 1992 ;12 :945-950.
- [17] Charlier P. *Les monstres humains dans l'Antiquité : analyse paléopathologique*, Paris, Fayard, 2008,
- [18] Veyne P. *Les Grecs ont-ils cru à leurs mythes ? Essai sur l'imagination constituante*, Paris, Éd. du Seuil, 1983.
- [19] Griaule M. *Dieu d'eau : entretiens avec Ogotemméli*, Paris, Ed. du Chêne, 1948.

AUGIAS A., POUPON J., CHARLIER P. Pratiques magico-religieuses contre la maladie et la mort en Éthiopie. *Feuillets de Biologie* 2015 ; 323 : 1-4.

Pratiques magico-religieuses contre la maladie et la mort en Éthiopie

A. AUGIAS¹, J. POUPON^{1, 2}, P. CHARLIER¹

I. - INTRODUCTION

Haut lieu du christianisme éthiopien, et plus précisément des Églises Orthodoxes Orientales dites « pré-chalcédoniennes » (c'est-à-dire antérieures au concile de Chalcédoine en 451 après J.-C.), la ville de Lalibela est devenue un lieu de pèlerinage et de fêtes religieuses qui ont su préserver des rites chrétiens des premiers temps, hérités de l'Église copte orthodoxe, tout en conservant des éléments païens. Deux pratiques magico-religieuses particulières se distinguent : la géophagie prophylactique ou thérapeutique, et l'usage de talismans protecteurs.

II. - GÉOPHAGIE OU TAPHOPHAGIE

La géophagie – littéralement, alimentation à base de terre – est une pratique médicale ancestrale mentionnée chez de nombreux anciens auteurs de médecine soit isolée, soit en contexte de grossesse (*pica*), soit – déjà – en contexte de prise volontaire thérapeutique (1). L'école hippocratique associe la géophagie aux signes cliniques de l'anémie : « Les hommes et les femmes qui ont une mauvaise couleur de peau, mais non une jaunisse (...) mangent des pierres et de la terre, et ont des hémorroïdes. Ceux qui ont une couleur verte, sans jaunisse franche, sont affectés de la même manière ». Les consommateurs de ces terres (celle de l'île de Lemnos – *argilla lemnia* – une argile



Fig 1 - Prêtre du tombeau de Lalibela avec son écuelle de terre sacrée (cliché P. Charlier).

ferrugineuse, était sans doute la plus réputée) étaient autant les jeunes filles souhaitant blanchir leur peau que les empoisonnés cherchant des antidotes (un rôle comparable à l'ingestion des charbons actifs en cas de prise massive de toxiques *per os*). Bien après, Avicenne (XI^{ème} siècle)

¹ Équipe d'Anthropologie Médicale et Médico-Légale, UFR des Sciences de la Santé (UVSQ, AP-HP), 2 avenue de la source de la Bièvre, 78180 Montigny-le-Bretonneux, France.

² Laboratoire de toxicologie biologique, CHU Lariboisière, 2 avenue A. Paré, 75010 Paris, France.



Fig 2 - Aspect macroscopique de l'échantillon de terre du tombeau du roi Gebra Maskal Lalibela (cliché P. Charlier).

décrit encore l'usage néfaste de tremper des objets en fer ou de la terre dans le vin fin...

De nos jours, la géophagie est toujours rencontrée dans de nombreux pays, et notamment en Afrique subsaharienne (Bénin, Cameroun, Sénégal, Mali) (2). La géophagie est utilisée de façon traditionnelle pour soulager les fièvres, les nausées et les vomissements (notamment chez la femme enceinte), les troubles de l'estomac, etc. L'ingurgitation d'une terre riche en fer pourrait revêtir un certain intérêt thérapeutique en cas de carence martiale, si tant est que la biodisponibilité du métal contenu dans la terre soit suffisante lorsqu'ingurgité *per os*... La terre de Lalibela est, elle, utilisée comme une véritable panacée ; ce n'est d'ailleurs pas n'importe quel site topographique qui est à l'origine d'un prélèvement de cette terre, mais le contenu et, à force d'épuisement du « filon », le pourtour du tombeau du roi éponyme de la ville. Les chrétiens d'Éthiopie entretiennent en effet un rapport mystique avec la terre du complexe religieux et notamment celle du tombeau du roi Gebra Maskal Lalibela (1142-1212), fondateur des onze églises monolithes édifiées comme un double de celles de Jérusalem. Taphophagie, donc, plus que simple géophagie, comme si les fidèles absorbaient volontairement des parcelles infimes du corps du saint dissout dans la terre alentour de son propre tombeau... En pratique, un prêtre récite des litanies sur un banc placé devant ledit tombeau, dont il est séparé par un rideau de velours pourpre, et tend à l'aide d'une cuiller d'argent un peu de la terre sacrée qu'il conserve dans un plat de terre cuite à côté de lui (Figure 1).

Un échantillon, prélevé par l'un de nous (PC) en 2013 (Figure 2), a fait l'objet d'une analyse élémentaire (scree-

Tableau - Dosages élémentaires d'un échantillon de terre du tombeau du roi Gebra Maskal Lalibela (en grisé, les terres rares).

Éléments*	Concentration (µg/g)
Li	5
Be	2
Mg	12 212
Si	181
P	2 813
S	1 016
Sc	3
Ti	231
V	35
Cr	6
Mn	252
Fe	5 054
Co	8
Ni	17
Cu	6
Zn	42
Ga	6
As	2
Se	1
Br	100
Rb	4
Sr	355
Y	26
Zr	59
Pd	1
Ba	65
La	39
Ce	94
Pr	12
Nd	53
Sm	11
Eu	3
Gd	12
Tb	1
Dy	7
Ho	1
Er	3
Tm	0
Yb	2
Hf	1
Pb	3
Th	5
U	1

* Les éléments suivants n'ont pas été détectés : Nb, Mo, Ru, Rh, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Te, I, Cs, Ge, B, Ta ; Lu (terres rares).

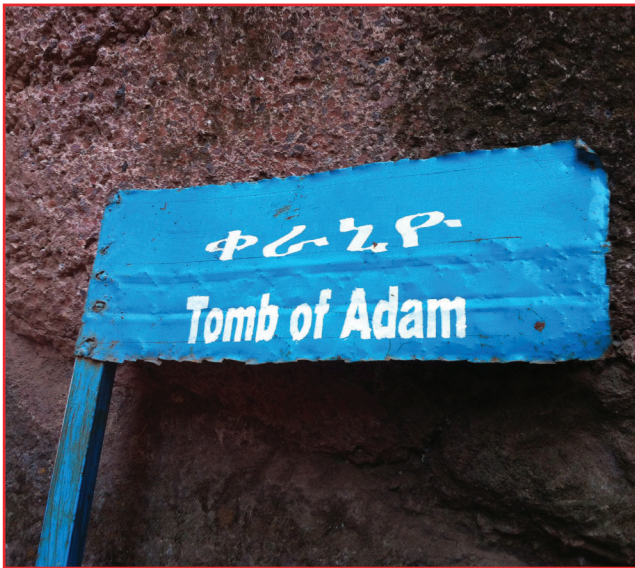


Fig 3 - Panneau indiquant l'emplacement du tombeau d'Adam sur le site de Lalibela (cliché P. Charlier).

ning par ICP-MS, dosage semi-quantitatif). Les résultats complets sont présentés dans le **tableau**. Il a été observé la présence d'une quantité non négligeable de terres rares (ensemble de 17 éléments chimiques : quinze lanthanides, du scandium et de l'yttrium), dont l'effet thérapeutique ne peut pas être évalué faute de données bibliographiques. Une riche teneur en fer (5 mg/g), donnant à la terre cette couleur rougeâtre très particulière, a également été mise en évidence ; c'est peut-être là une indication d'un éventuel effet thérapeutique sur le corps, à l'origine de cette croyance géo- (ou tapho-) thérapeutique ? Il s'agit néanmoins de fer minéral, dont on sait qu'il est très peu absorbé par l'organisme (l'absorption est de seulement 10 % du fer ingéré) et ne possède en conséquence quasiment aucune propriété thérapeutique (3).

Une relecture religieuse du site montre que cette pratique ne trouve peut-être pas son origine dans d'éventuelles qualités des éléments composant la terre, mais simplement dans la couleur de celle-ci due au fer. Elle pourrait, en effet, être en relation avec la naissance du premier homme dans le livre de la *Genèse* et l'Ancien Testament, et plus précisément celle du mot *adam*, utilisé tant comme nom commun que comme nom propre. Ce terme divise au sein des chercheurs, qui y voient plusieurs interprétations : pour certains, il pourrait être lié au mot *ha adamah* (« le terrain ») et ainsi voir l'homme comme étant né de la terre ; pour d'autres, il pourrait être traduit par « être rouge », ou « à construire », voyant l'homme comme un bâtisseur. Certains chercheurs fusionnent ces interprétations, et traduisent ce mot par « terre rouge », correspondant ainsi à la couleur de la terre dont est formé ce premier homme (46). Toutes ces interprétations sont valables sur le site de Lalibela, qui recèle d'ailleurs un tombeau mythique d'Adam (**Figure 3**), celui-là même qui fut réoccupé *a posteriori* par la dépouille du roi Gebra Maskal Lalibela !

III. - TALISMANS APOTROPAÏQUES

Les talismans apotropaïques – littéralement qui repoussent le mauvais œil – se présentent sous la forme de parchemins manuscrits assemblés par couture et formant un long rouleau, lui-même inséré dans un étui, lequel doit être porté au contact du corps, et notamment autour de la taille. Ils sont destinés à repousser les démons et lutter ainsi contre la survenue de maladies, voire retarder la mort. Cette pratique est attestée dès le XVI^{ème} siècle et de nombreux exemplaires sont conservés dans les collections ethnologiques ; citons par exemple les artefacts du musée du Quai Branly (vitrine des rouleaux protecteurs éthiopiens, zone Afrique / n° Inv. 73.1995. 2.44) ou du musée d'Angoulême (n° Inv. 010.3.3). L'iconographie renvoie de façon presque systématique aux anges et aux démons, mais peut parfois inclure d'illustres personnages issus des fonds historiques ou religieux tels Alexandre le Grand ou le roi Salomon.



Fig 4 - Première représentation de l'archange Gabriel (cliché P. Charlier).



Fig 5 - Représentation des quatre évangélistes (cliché P. Charlier).

Dans le cas présent, le rouleau protecteur (conservé dans une collection privée), daté de la fin du XVIII^{ème} - début du XIX^{ème} siècle, mesure 98 x 12 cm. Il se compose de quatre images et de trois textes de prières ou de passages de l'Évangile. Les peintures consistent successivement en une représentation schématique et sans couleur de l'archange Gabriel (Figure 4), des quatre évangélistes Matthieu, Marc, Luc et Jean (Figure 5), une scène en couleur illustrant l'archange Gabriel éloignant le démon en transperçant de sa lance le corps d'un homme possédé (Figure 6), et une dernière représentation de l'archange Gabriel (Figure 7), laquelle est le pendant de la première.

IV. - CONCLUSION

Lalibela apparaît comme un lieu unique dans lequel les pratiques culturelles témoignent d'un christianisme des origines resté intact, par l'isolement géographique et religieux, dont l'usage se poursuit, mais dont la signification ancestrale a depuis été oubliée.

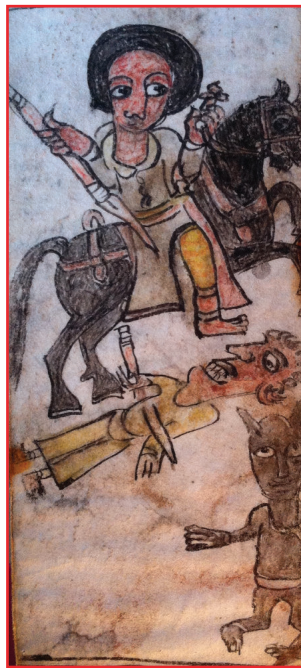


Fig 6 - Représentation de l'archange Gabriel chassant un démon hors d'un malade (cliché P. Charlier).

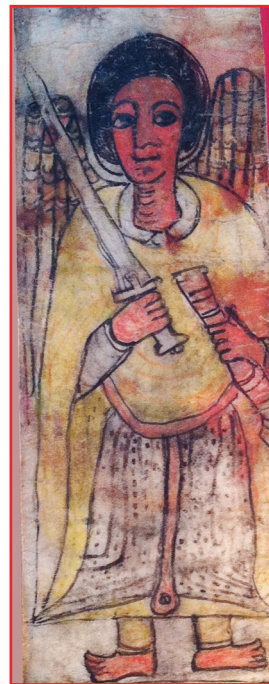


Fig 7 - Seconde représentation de l'archange Gabriel (cliché P. Charlier).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Fairbanks VF, Fahay JL, Beutler E. Clinical disorders of iron metabolism. London, Grune & Stratton, 1971.
- (2) Thiriez F. Des pratiques culturelles de soins au Mali, DUFAM, Université Paris Nord, Bobigny, 2001.
- (3) Andrews NC. Forging a field: the golden age of iron biology. *Blood* 2008 ; **112** : 219-30.
- (4) Delitzsch F. Assyrisches Handwörterbuch, Leipzig, 1896.
- (5) Gesenius W. Thesaurus philologico-criticus linguae Hebraicae et Chaldaicae V. Lat. ed. 1835. Tregelles, 4 vols, 1857.
- (6) Pinches TG. The Old Testament, in the light of the historical records and legends of Assyria and Babylonia, Society for Promoting Christian Knowledge (SPCK), E & J B Young, London, Brighton & New York, 1903.

2.2 Question sanitaire des pratiques rituelles

Cette démarche restitutionnelle des croyances et des gestes entraîne de nouvelles interrogations. Certains comportements traditionnels préoccupent les autorités sanitaires mondiales, notamment concernant les risques épidémiques et polluants qu'elles peuvent engendrer. Si l'on reprend l'exemple de la géophagie, outre l'aspect rituel, elle expose un réel danger sanitaire que l'on retrouve en Haïti et en Guadeloupe dans un contexte de famine. Par l'ingestion de galettes de boue, ces populations étaient sujettes aux carences, aux intoxications, aux appendicites ou infections parasitaires⁹³.

Parmi les plus alarmants, le cas des rituels liés au Gange, consistant à boire ou s'immerger dans les eaux du fleuve⁹⁴ réputées nocives à cause de la pollution issue des activités humaines professionnelles (usines), quotidiennes (lavage du linge, de la vaisselle, des aliments et du corps) et traditionnelles (dépôts de corps humains et animaux). Ces pratiques entraînent la propagation des maladies telles que le choléra, la dysenterie et la salmonelle.

Les analyses élémentaires répondent à la démarche de mise en lumière des éléments nocifs présents dans l'environnement ou engendrés par les comportements humains pouvant impacter sur la santé de nos ancêtres et contemporains.

⁹³ BALESDENT J., DAMBRINE E. et FARDEAU J.C. *Les sols ont-ils de la mémoire ? 80 clés pour comprendre les sols*. Paris, Quaes ed., 2015.

⁹⁴ AMADO P. Le bain dans le Gange. Sa signification. *Bulletin de l'Ecole française d'Extrême-Orient* 1971 ; 58(1) : 197-212.

AUGIAS A., POUPON J., JACQUELINE S., CHARLIER P. *Kumbha Mela* ; du rituel d'immersion à l'éco-toxicologie du Gange. *6e Colloque International de Pathographie 2015* : 105-115.

AUGIAS A.¹, POUPON J.², JACQUELINE S.¹, CHARLIER P.¹

KUMBHA MELA : DU RITUEL D'IMMERSION À L'ÉCO-TOXICOLOGIE DU GANGE

KUMBHA MELA : FROM THE IMMERSION RITUAL TO THE ECO-TOXICOLOGY OF THE GANGE RIVER

Résumé

Réceptacle des activités humaines (quotidiennes, traditionnelles et industrielles), le Gange est devenu l'un des fleuves les plus pollués du monde. La présence d'agents infectieux et polluant est sans cesse démontrée dans différentes études élémentaires et peuvent alors avoir des répercussions irréversibles sur l'homme lors de l'ingestion de l'eau.

Un échantillon d'eau et de sédiment a été prélevé à l'occasion de la *Khumba Mela* à Allahabad en 2015, et les données obtenues à l'analyse reflètent une eau plus faiblement contaminée avec, dans l'ordre croissant, la présence de La=Ce=Nd=Y=Zn < Mo=Pb=Rb=V < Cu < As=Cr=Sb < U < Li < Mn < B < Br < Ba < Ti < Fe < Sr < Al < P < Si < K < Mg < Ca < Na. Ces résultats montrent que, bien que pollué, le fleuve du Gange ne présente, à l'endroit et au moment du prélèvement, aucun risque cutané majeur.

Abstract

Receptacle of human activities (daily, traditional and industrial), the Gange River has become one of the most polluted rivers in the world. The presence of infectious and polluting agents is constantly demonstrated in various elementary studies and can then have irreversible repercussions on humans during the ingestion of water.

A sample of water and sediment was collected from the *Khumba Mela* in Allahabad in 2015, and the data obtained from the analysis reflects less contaminated water with, in increasing order, the presence of La=Ce=Nd=Y=Zn < Mo=Pb=Rb=V < Cu < As=Cr=Sb < U < Li < Mn < B < Br < Ba < Ti < Ca < Na. These results show that, although polluted, the Gange River has no major skin hazard at the sampling site at this period.

Introduction

Bien que considéré comme le fleuve le plus contaminé au monde, le Gange est le centre de la vie des Hindous, recueillant les activités culturelles, quotidiennes et

(1) Equipe d'Anthropologie Médicale et Médico-Légale, UFR des Sciences de la Santé (UVSQ, AP-HP), 2 avenue de la source de la Bièvre, 78180 Montigny-le-Bretonneux, France.

(2) Laboratoire de toxicologie biologique, CHU Lariboisière, 2 avenue A. Paré, 75010 Paris, France.

industrielles de la communauté. Il est alors courant de laver sa vaisselle, de déverser des déchets toxiques, de déposer les cendres de défunts ou de pratiquer des rituels puisque selon le Veda, « les eaux ne lavent pas seulement physiquement mais sont purificatrices » (1).



Fig. 1 : *Rassemblement de la Khumba Mela*

La *Kumbha mela*, le plus grand pèlerinage du monde, rassemble durant environ un mois plus de 30 millions de fidèles tous les 12 ans (Fig. 1). La légende veut que, dans les temps anciens, les Dieux et les Démons aient fait une alliance provisoire pour élaborer ensemble le nectar de l'immortalité afin de le partager. Mais quand la *Kumbha*, c'est-à-dire la cruche, pleine du fameux nectar apparût, les Démons s'en emparèrent et s'enfuirent, poursuivis par les Dieux. Durant 12 nuits divines, équivalentes à 12 années humaines, les Dieux et les Démons combattirent dans le ciel. Au cours de cette bataille autour de la cruche, quatre gouttes de nectar d'immortalité s'échappèrent pour tomber en quatre endroits du pays. Le plus important de ces quatre lieux sanctifiés au bord du Gange, recevant chacun les pèlerins, est dans la ville d'Allahabad où une véritable ville temporaire qui s'établit alors le long du fleuve pour l'occasion. Les eaux y sont sacrées et des millions de pèlerins hindouistes viennent s'y purifier (Fig. 2). Ces croyances mènent les populations à penser que le fleuve sacré purifie tout ce qui s'y plonge et qu'il ne peut pas être souillé. Il résulte une inquiétude internationale quant à la contamination du fleuve et à l'impact sanitaire.

La présence d'agents polluants et toxiques dans l'eau du Gange provoque des effets néfastes voire mortels comme le choléra (2, 3, 4), des hépatites (3, 5) mais ces métaux lourds peuvent-ils provoquer des lésions cutanées épidermiques, voire



Fig. 2 : *Bain sacré de la Khumba Mela*

dermiques, importantes ? Il s'agit alors de proposer un nouveau regard sur l'impact cutané lors des bains quotidiens ou rituels mais surtout sur la nocivité de l'eau du Gange.

Matériel et méthodes

À l'occasion de la *Kumbha mela*, à Allahabad, située à 120 km au sud-est de Bénarès, et plus précisément au confluent de deux fleuves : le Gange et la Yamuna, un échantillon d'eau et sédiment a été prélevé par l'un de nous en 2015 (PC) (Fig. 3) et a fait l'objet d'une analyse élémentaire (screening par ICP-MS, dosage semi-quantitatif). Les résultats complets sont présentés dans le tableau 1.

Résultats et discussion

Les chercheurs mettent classiquement en évidence de nombreux agents infectieux et polluants dont les plus inquiétantes sont une haute teneur en mercure, arsenic et agents chimiques (Tableau 2), ainsi que la présence de salmonella, choléra, etc. (Tableau 3). Si l'on se réfère aux résultats des précédentes analyses entreprises à proximité de notre échantillonnage (Fig. 4), et notamment à la rivière de Yamuna (6, 7, 8), sur le Gange (4, 3, 9, 5) et dans la ville d'Allahabad (10), on

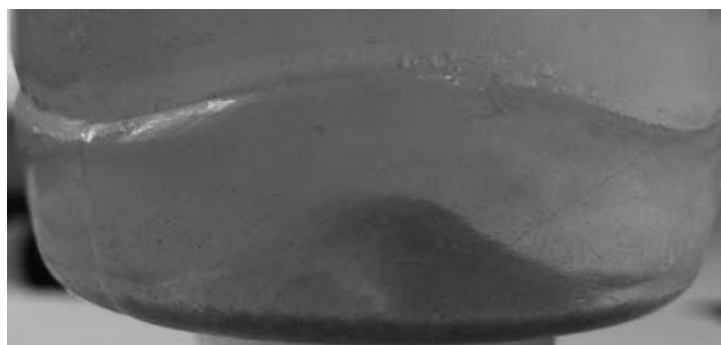


Fig. 3 : *Echantillon d'eau et de sédiment du Gange*

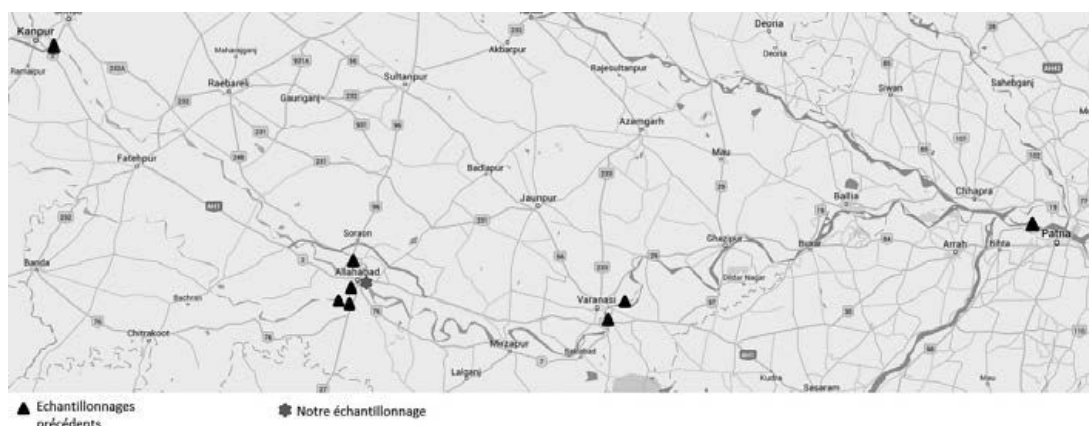


Fig. 4 : *Localisation des échantillonnages d'eau à proximité de notre échantillonnage*

observe une teneur inquiétante en mercure, zinc et plomb, lesquels sont hautement toxiques et peuvent avoir des effets importants voire irréversibles sur l'organisme interne et corrosifs sur la peau.

Notre échantillon révèle des dosages élémentaires différentiels et révèle la présence des éléments suivants : $La=Ce=Nd=Y=Zn < Mo=Pb=Rb=V < Cu < As=Cr=Sb < U < Li < Mn < B < Br < Ba < Ti < Fe < Sr < Al < P < Si < K < Mg < Ca < Na$. Aucune présence inquiétante de métaux lourds n'est détectée et on note également l'absence de mercure. Parmi les éléments présents, trois se distinguent, à savoir le *Vanadium* (V), *Chromium* (Cr) et *Titanium* (Ti), lesquels peuvent être toxiques lors d'ingestion ou d'inhalation, lors du travail au contact direct du minerai mais également par sa dissolution dans l'eau et par les vapeurs. Leur présence est naturelle mais lié pour l'essentiel à des émissions d'origine industrielle. À l'image des métaux lourds révélés par les précédentes analyses, le *Vanadium* (V), le *Chromium* (Cr) et le *Titanium* (Ti) a des répercussions néfastes sur l'organisme interne lors de l'absorption par voie orale.

Bien que mineure, la voie cutanée représente tout de même une voie d'absorption (11, 12, 13). Toutefois, seules des lésions cutanées de type dermatites ou

ulcérations peuvent être provoquées avec le *Vanadium* ou le *Chromium*, qui est un toxique mutagène, lors d'une présence supérieure à $5\mu\text{g}/\text{m}^3$ pour ce dernier (13), ce qui n'est pas le cas ici. De ce fait, aucun effet néfaste majeur n'est à craindre lors de contact cutané dans la zone échantillonnée.

Conclusion

Les résultats de l'échantillonnage prélevé à Allahabad, lors du pèlerinage de *Kumbha mela*, vont à l'encontre des précédentes conclusions puisqu'aucun métal lourd n'est présent à des dosages inquiétants. L'absence de toxiques lourds dans cet échantillonnage n'affirme en aucun cas la pureté du fleuve. En effet, le fait que ces eaux soient considérées comme sacrées dans la culture hindou mène la population à adopter des comportements sanitaires dangereux. Ainsi, faute d'argent pour payer le bois, certaines familles ne peuvent pratiquer une crémation complète, laissant alors des cadavres flottants. Par ces pratiques, l'eau du Gange est toxique lorsqu'elle est ingérée. Toutefois, à Allahabad, elle ne présente aucun risque cutané majeur lors du bain sacré lavant l'âme de tous les péchés (Fig. 5). Toutefois, les rituels d'immer-



Fig. 5 : Purification par l'eau du Gange

sion purificatrice peuvent également s'accompagner de l'*acamana*, qui consiste « à boire dans le creux de sa main droite en faisant couler l'eau à la base du pouce vers le poignet » (14), en prononçant des *mantras*, afin de purifier également l'intérieur du corps.

Références

- (1) Rig Veda, VII.49.1– Rig Veda, Nag Publishers, New Delhi, 2006.
- (2) Siddique AK, Cash R. “Cholera outbreaks in the classical biotype era”. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 2014;379 :1-16.
- (3) Hammer S, Tripathi S, Tripathi A, Mishra RK, Bouskill N, Broadway SC, Pyle BH, Ford TE. “The role of water use patterns and sewage pollution in incidence of water-borne/enteric diseases along the Ganges river in Varanasi, India”. *International journal of environmental health research*, 2006;16(2) :113-132.
- (4) De A, Sen OC, Tewari IC, “Enteropathogenic bacteria in river Ganges in Varanasi”. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*, 1993 ;36(4) :425-432.
- (5) Naik SR, Aggarwal R, Salunke PN, Mehrotra NN, “ A large waterborne viral hepatitis E epidemic in Kanpur, India”. *Bulletin of the World Health Organization*, 1992;70(5) :597-604.
- (6) Chakrapani GJ, Subramanian V., “Fractionation of heavy metals and phosphorus in suspended sediments of the Yamuna river, India”. *Environmental Monitoring and Assessment*, 1996; 43(2) :117-124. doi : 10.1007/BF00398602.
- (7) Miyamoto A, Sakura K, Hairaide R, Minamiyana M, Fujik O, “Field survey of pollutants discharged from different types of residential area in the Yamuna River Basin, India”, *Water Science and Technology*, 2011 ;64(11) : 2207-2216.
- (8) Subramanian V, Madhavan N, Saxena R, Lundin LC, “Nature of distribution of mercury in the sediments of the river Yamuna (tributary of the Ganges), India”. *Journal of Environmental Monitoring*, 2003;5(3) :427-434.
- (9) Kumari A, Sinha RK, Gopal K, Lata S, “Concentration of organochlorines in Ganges River dolphins from Patna, Bihar”. *Journal of Environmental Biology*, 2002 Jul;23(3) :279-281.
- (10) Gupta A, Rai DK, Pandey RS, Sharma B., “Analysis of some heavy metals in the riverine water, sediments and fish from river Ganges at Allahabad.” *Environmental Monitoring and Assessment*, 2009 ;157(1-4) :449-458.
- (11) Shi H, Magaye R, Castranova V, Zhao J., « Titanium dioxide nanoparticles : a review of current toxicological data » *Particle and Fibre Toxicology*, 2013 : 10 :15
- (12) Bisson M, Bonnomet V, Gay G, Ghillebeart F, Guillard D, Lethielleux L, Tack V., « Vanadium et ses composés », *INERIS – Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques*, 2012 : 2-3.
- (13) Baranowska-Dutkiewicz P., « Absorption of hexavalent chromium by skin in man. » *Archives of Toxicology*, 1981, 47(1) : 47-50.
- (14) Amado P., “Le bain dans le Gange. Sa signification”. *Bulletin de l'Ecole française d'Extrême-Orient*. 1971 ; 58(1) : 197-212.
- (15) Rajmohan N, Prathapar SA Jayaprakash M, Nagarajan N., “Vertical distribution of heavy metals in soil profile in a seasonally waterlogging agriculture field in Eastern Ganges Basin”. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2014;186(9) :5411-5427.

- (16) Parween M., Ramathan A., Khillareps P.S., Raju N.J., "Persistence, variance and toxic levels of organochlorine pesticides in fluvials sediments and the role of black carbon in their retention, *Environmental science and pollution research international*, 2014;21(10) :6525-6546.
- (17) Malik RN, Ghaffar B, Hashmi MZ, "Trace metals in Ganges soft-shell turtle (*Aspideretes gangeticus*) from two barrage : Baloki and Rasul, Pakistan.", *Environmental science and pollution research international*, 2013;20(11) :8263-73.
- (18) Fattorini D, Sarkar SK, Regoli F, Bhattacharya BD, Rakshit D, Satpathy KK, Chatterjee M., "Levels and chemical speciation of arsenic in representative biota and sediments of a tropical mangrove wetland, India." *Environmental Science : Processes & Impacts*, 2013;15(4) :773-782.
- (19) Kumari M, Tripathi S, Pathak V, Tripathi BD., "Chemometric characterization of river water quality.", *Environmental Monitoring and Assessment*, 2013;185(4) :3081-92.
- (20) Massolo S, Bignasca A, Sarkar SK, Chatterjee M, Bhattacharya BD, Alam A., "Geochemical fractionation of trace elements in sediments of Hugli River (Ganges) and Sundarban wetland (West Bengal, India)." *Environmental Monitoring and Assessment*, 2012;184(12) :7561-7577.
- (21) Chatterjee M, Canario J, Sarkar SK, Branco V, Godhantaram N, Bhattacharya BD, Bhattacharya A, "Biogeochemistry of mercury and methylmercury in sediment cores from Sundarban mangrove wetland, India--a UNESCO World Heritage Site." *Environmental Monitoring and Assessment*, 2012;184(9) :5239-5254.
- (22) Antizar-Ladislao B, Sarkar SK, Anderson P, Peshkur T, Bhattacharya BD, Chatterjee M, Satpathy KK., "Baseline of butyltin contamination in sediments of Sundarban mangrove wetland and adjacent coastal regions, India.", *Ecotoxicology*. 2011;20(8) :1975-1983.
- (23) Pal M, Ghosh S, Mukhopadhyay Gosh M., "Methyl mercury in fish--a case study on various samples collected from Ganges river at West Bengal", *Environmental Monitoring and Assessment*, 2012;184(6) :3407-14.
- (24) Reza AH, Jean JS, Lee MK, Liu CC, Bundschuh J, Yang HJ, Lee JF, Lee YC., "Implications of organic matter on arsenic mobilization into groundwater : evidence from northwestern (Chapai-Nawabganj), central (Manikganj) and southeastern (Chandpur) Bangladesh." *Water Research*, 2010;44(19) :5556-5574.
- (25) Li C, Kang S, Zhang Q, Gao S, Sharma CM., "Heavy metals in sediments of the Yarlung Tsangbo and its connection with the arsenic problem in the Ganges-Brahmaputra Basin." *Environ Geochem Health*. 2011;33(1) :23-32.
- (26) Jonathan MP, Sarkar SK, Roy PD, Alam A., Chatterjee M, Bhattacharya BD, Bhattacharya A, "Acid leachable trace metals in sediment cores from Sunderban Mangrove Wetland, India : an approach towards regular monitoring." *Ecotoxicology*. 2010;19(2) :405-418.

- (27) Rehana Z, Malik A, Ahmad M., "Genotoxicity of the Ganges water at Narora (U.P.), India". *Mutation Research*, 1996;367(4) :187-193
- (28) Ahmad S, Ajmal M, Nomani AA., "Organochlorines and polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediments of Ganges River (India)". *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1996;57(5) :794-802.
- (29) Rakshit D, Biswas SN, Sarkar SK, Bhattacharya BD, Godhantaraman N, Satpathy KK. "Seasonal variations in species composition, abundance, biomass and production rate of tintinnids (Ciliata : Protozoa) along the Hooghly (Ganges) River Estuary, India : a multivariate approach." *Environmental Monitoring and Assessment*, 2014;186(5) :3063-3078.
- (30) Batabyal P, Einsporn MH, Mookerjee S, Paliti A, Neogi SB, Nair GB, Lara RJ., "Influence of hydrologic and anthropogenic factors on the abundance variability of enteropathogens in the Ganges estuary, a cholera endemic region". *Science of the Total Environment*, 2014; 472 :154-161.
- (31) Jyoti A, Vajpayee P, Singh G, Patel CB, Gupta KC, Shanker R, "Identification of environmental reservoirs of nontyphoidal salmonellosis : aptamer-assisted bioconcentration and subsequent detection of salmonella typhimurium by quantitative polymerase chain reaction." *Environmental Science & Technology*, 2011 ;45(20) :8996-9002.
- (32) Hamner S, Broadway SC, Mishra VB, Tripathi A, Mishra RK, Pulcini E, Pyle BH, Ford TE, « Isolation of potentially pathogenic *Escherichia coli* O157 :H7 from the Ganges River". *Applied and Environmental Microbiology* 2007;73(7) :2369-2372.
- (33) Annapurna E, Sanyal SC., "Enterotoxicity of *Aeromonas hydrophila*". *Journal of Medical Microbiology*, 1977 ;10(3) :317-323.
- (34) Nomani AA, Ajmal M, Ahmad S., "Gas chromatography – mass spectrometric analysis of four polluted river waters for phenolic and organic compounds". *Environmental Monitoring and Assessment*, 1996;40(1) :1-9.

Tableau I :

Dosages élémentaires d'un échantillon d'eau du Gange, prélevé à Allahabad

	Eau Gange H+ ($\mu\text{g/L}$)
Li	7
Be	0
B	30
Na	26 195
Mg	13 399
Al	144
Si	623
P	157
K	2 648

Ca	19 928
Sc	0
Ti	78
V	2
Cr	5
Mn	16
Fe	84
Co	0
Ni	0
Cu	4
Zn	1
Ga	0
Ge	0
As	5
Se	0
Br	35
Rb	2
Sr	143
Y	1
Zr	0
Nb	0
Mo	2
Ru	0
Rh	0
Pd	0
Ag	0
Cd	0
In	0
Sn	0
Sb	5
Te	0
I	0
Cs	0
Ba	74
La	1
Ce	1
Pr	0
Nd	1
Sm	0
Eu	0
Gd	0
Tb	0
Dy	0

Ho	0
Er	0
Tm	0
Yb	0
Lu	0
Hf	0
Ta	0
W	0
Re	0
Os	0
Ir	0
Pt	0
Au	0
Hg	0
Tl	0
Pb	2
Bi	0
Th	0
U	6

Tableau II Les agents polluants retrouvés dans l'eau du Gange

Polluants	References
Fe > Mn > Cr > Zn > Ni > Cu > Co > Pb > Cd.	(15)
Σ 20OCP (21.41 to 139.95 ng g ⁽⁻¹⁾), β -Hexachlorocyclohexane (β -HCH), Σ HCH et Dichloro-diphényl trichloréthane (DDT), γ -HCH, α -HCH, endrine, époxyde d'heptachlore, dichlorodiphényldichloroéthane (DDD), carbone organique total (TOC), carbone noir (BC)	(16)
Fe > Zn > Ni > Cu > Mn > Pb > Cr > Co > Cd	(17)
As: arsénobétaïne (AsB) > diméthylarsinate de sodium (DMA), oxide de triméthylarsine (TMAO), Tetramethylarsonium (TETRA) et arsénocholine (AsC), arsenic inorganique (IAs)	(18)
EC, Cr, Ni, Fe, N, Zn, Pb, Cd, Cu, PO	(19)
Cd > Mn > Cu > Zn > As > Co > Pb > Ni > Fe > Cr > Al	(20)
polluants	(7)
Hg(T) MeHg	(21)
Butyltines (BTs) : Tributylétain (TBT), dibutylétain (DBT), Monobutylétain (MBT)	(22)
Méthylmercure (MeHg)	(23)

Amines, phénol, alcanes et carbone aromatique, As(V), Fe(III) : FeOOH, Mn: Mn-hydroxides.	(24)
Zn, Ni, AS	(25)
Fe, Mn, Cr, Cu, Ni, Pb, Ba, As, Mo	(26)
Zn > Pb > Cu > Cr > Cd	(10)
Mercure	(8)
DDT, HCH, aldrine et endosulfan	(9)
DDT, alpha-BHC, aldrine, Endrine, dieldrine, diméthoate, méthyl parathion, methyl parathion	(27)
BHC, DDT, Organochloré (OC), Hydrocarbure aromatique polycyclique (PAH)	(28)
Oxides Fe, Mn, Pb, Zn, Cu- Fe-Mn Carbonates	(6)

Tableau III Les agents infectieux retrouvés dans l'eau du Gange

Infectious agents	Références
Tintinnide: Tintinnopsis, Tintinnidium, Leprotintinnus, Dadayiella, Favella, Metacylis, Eutintinnus et Helicostomella.	(29)
Choléra: biotypes classiques et El Tor de V. cholerae O1	(2)
CComptes de Vibrio cultivable (CVC, de ~ 10 (2) à ~ 10 (5) CFU / L) et de bactéries totales (TBC, de ~ 10 (5) à ~ 10 (9) CFU / L) Couplage benthopélagique de la dynamique de Vibrio	(30)
Salmonella Typhimurium	(31)
Serotype de Escherichia coli O157:H7	(32)
L'incidence de la maladie d'origine hydrique / entérique, y compris les maladies gastro-intestinales aiguës, le choléra, la dysenterie, l'hépatite A et la typhoïde	(3)
Aeromonas hydrophila Inocula	(33)
Hépatite icterique	(5)
Vibrio cholerae 0-1, Non 0-1 Vibrio cholerae, Vibrio fluvialis, Aeromonas sp. , Plesiomonas sp. , Salmonella sp., Shigella sp. , Pseudomonas sp., Proteus sp., E. coli...	(4)
Trichlorophénol Pentachlorophénol Phenols ?	(34)
Mutagenicité avec TA102, TA100 et TA98 RecA, lexA et polA de E. coli	(27)

CHAPITRE 3

CONTEXTUALISATION DES ÉCHANGES INTER-DISCIPLINAIRES. ÉTHIQUE DES PRATIQUES

3.1 Archéologie judiciaire

La transition entre archéologie et médecine-légale est légitimement étroite.

Les articles 7 à 9 du *Code de Procédure Pénale* indiquent une prescription criminelle de l'action publique de 10 ans et de 30 ans pour les crimes de guerre⁹⁵. Au-delà de ce délai, lors d'une découverte fortuite, les restes osseux ne sont plus du ressort de la justice. De plus, les communes n'ont aucune obligation légale d'identifier un corps. C'est ainsi entre 800 et 2 000 personnes disparues qui sont enterrées sous X sans être analysées⁹⁶.

La médecine légale, au-delà de sa réquisition pour l'autopsie (déterminer les causes de décès, identifier l'individu et préciser le mécanisme de la mort), n'a légalement pas autorisation à pratiquer des prélèvements ou toute activité de recherche sur le corps du patient. En effet, « l'utilisation des éléments et des produits du corps humains »⁹⁷, hors du contexte restreint défini par ces mêmes lois, pourrait relever de l'« atteinte à l'intégrité du cadavre »⁹⁸.

En parallèle, en archéologie, les lois permettent la protection des sols et des vestiges anciens dans le cadre préventif comme programmé, c'est-à-dire menacé de destruction ou non (loi n° 2001-44 du 17 janvier 2001 relative à l'archéologie préventive⁹⁹, loi n° 41-4011 du 27

⁹⁵ Articles 7 à 9 du *Code de Procédure Pénale* [En ligne]

<https://www.legifrance.gouv.fr/affichCodeArticle.do?idArticle=LEGIARTI000024496760&cidTexte=LEGITEXT000006071154>, consulté le 20.10.2016.

⁹⁶ CAVARD S., ALVAREZ J.-C., DE MAZANCOURT P., CHARLIER P., « Forensic and police identification of "X" bodies. A 6-years French experience », *Forensic science international*, 204(1-3):139-43, 2011.

⁹⁷ Loi n° 94-654 du 29 juillet 1994 [En ligne]

<https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000549618>, consulté le 19.06.2017.

⁹⁸ Article 225-17 du Code Pénal, version du 21 décembre 2008. [En ligne]

<https://www.legifrance.gouv.fr/affichCodeArticle.do?cidTexte=LEGITEXT000006070719&idArticle=LEGIARTI000006417907&dateTexte=&categorieLien=cid>, consulté le 19.06.2017.

⁹⁹ Loi n° 2001-44 du 17 janvier 2001 [En ligne]

<https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000221337>, consulté le 12.06.2017

septembre 1941 relative à la réglementation des fouilles archéologiques¹⁰⁰ et loi n° 89-900 du 18 décembre 1989 relative à l'utilisation des détecteurs de métaux¹⁰¹). Toutefois, le cadre légal ne permet pas de statuer de manière claire sur l'intervention archéologique sur restes osseux humains :

- l'article 225-17 du *Code Pénal* stipule que : « Toute atteinte à l'intégrité du cadavre, par quelque moyen que ce soit, est punie d'un an d'emprisonnement et de 15 000 euros d'amende. La violation ou la profanation, par quelque moyen que ce soit, de tombeaux, de sépultures, d'urnes cinéraires ou de monuments édifiés à la mémoire des morts est punie d'un an d'emprisonnement et de 15 000 euros d'amende »¹⁰²,
- l'article 16 de la loi n°94-653 du 29 juillet 1994 relative au respect du corps humain : « Le corps humain, ses éléments et ses produits ne peuvent faire l'objet d'un droit patrimonial. Il ne peut être porté atteinte à l'intégrité du corps humain qu'en cas de nécessité thérapeutique pour la personne. »¹⁰³.

Par ces deux articles de loi, les fouilles archéologiques funéraires et l'examen de restes humains apparaissent comme tolérés¹⁰⁴. Cependant, c'est le caractère ancien, c'est-à-dire au-delà du délai de prescription de la loi (sur le plan pénal : 30 ans), qui rend justement licite l'action de l'archéologue¹⁰⁵.

Compte tenu de la complexité de statuer de manière claire sur le rôle des organismes archéologiques, ces derniers, s'ils en sont informés et s'ils le souhaitent, pourraient alors, lorsque l'occasion légale leur est donnée, tenir un rôle criminalistique important en prenant le relai systématique des autorités une fois le délai de prescription passé¹⁰⁶. Toutefois, bien que

¹⁰⁰ Loi n° 41-4011 du 27 septembre 1941 [En ligne]

<https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=LEGITEXT000006074257>, consulté le 12.06.2017.

¹⁰¹ Loi n° 89-900 du 18 décembre 1989 [En ligne]

<https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000875365>, consulté le 12.06.2017.

¹⁰² Article 225-17 du *Code Pénal* [En ligne]

<https://www.legifrance.gouv.fr/affichCodeArticle.do?cidTexte=LEGITEXT000006070719&idArticle=LEGIARTI000006417907&dateTexte=&categorieLien=cid>, consulté le 12.06.2017.

¹⁰³ Article 16 de la loi n°94-653 du 29 juillet 1994 [En ligne]

<https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000549619&categorieLien=id>, consulté le 12.06.2017.

¹⁰⁴ CADOT L. Les restes humains : une gageure pour les musées ? *La Lettre de l'OCIM* 2007 ; 109 : 4-15.

¹⁰⁵ CHARLIER P. *Ouvrez des cadavres : Une anthropologie médicale du corps mort*. Paris, Buchet Chastel, 2015.

¹⁰⁶ « La découverte fortuite. De la trouvaille à la mise en valeur ». *Archéologie en Normandie*, n°1, 2016, p.10.

l'archéologue ait la possibilité de faire une demande d'autorisation d'étude à l'État (comme c'est le cas pour chaque fouille archéologique), il n'est pas prévenu de ces découvertes contemporaines n'entrant plus dans le cadre légal.

Cette législation pose ainsi un réel problème éthique et scinde les deux disciplines scientifiques, contrairement aux pays anglo-saxons, car, outre la victimologie, l'échange systématique entre la médecine-légale et l'archéo-anthropologie répond aux problématiques techniques mutuelles servant la diagnose et l'interprétation.

Une inhumation est un lieu (de funérailles et de mémoire, de décomposition et de conservation) et un ensemble de volumes, témoins de gestes volontaires, d'une intention. Les dépôts d'ossements humains peuvent être une sépulture, un accident, un rejet (exécution, meurtre, consommation, sacrifice) ou une mise en scène. Ils nous renseignent sur l'individu inhumé (sexe, âge, taille, pathologies, causes de décès,...), sur ses proches, sa société, son époque (rang social, pratiques funéraires, épidémies, quotient de mortalité, espérance de vie, lien de parenté,...) et sur son fossoyeur (mode opératoire)^{107,108,109}.

En ce sens, l'archéologie et la médecine légale sont animées par les mêmes objectifs lors de la découverte d'un individu squelettisé, à savoir la protection et la conservation des indices permettant l'identification de l'individu et la reconstitution des gestes funéraires. Toutefois, afin de répondre à ces problématiques, les deux disciplines mettent en place différentes méthodes.

Sur le terrain, dans le cadre légal, l'exhumation et l'étude des indices environnants est à la charge des techniciens d'investigations criminelles (TIC), lesquels sont formés aux relevés (photographiques ou biologiques) et analyses physico-chimiques visant à l'identification de suspects. Le médecin légiste, quant à lui, va se concentrer sur la victime dans le but de déterminer les causes de décès et le mode opératoire criminel.

¹⁰⁷ LECLERC J., TARRÊTE J. « Inhumation » et « Sépulture ». In : LEROI-GOURHAN A (dir.), *Dictionnaire de la Préhistoire* 1988 ; 513-514, 963-964.

¹⁰⁸ DUDAY H., COURTAUD P., CRUBEZY É., SELLIER P., TILLIER A.M. (dir.). L'anthropologie « de terrain » : Reconnaissance et interprétation des gestes funéraires. *Bulletins et Mémoires de la Société d'Anthropologie de Paris* 1990 ; 2(3-4) : 29-50.

¹⁰⁹ THEVENET C. *Des faits aux gestes : pratiques funéraires et sociétés du Néolithique ancien du Bassin parisien*. Thèse de nouveau doctorat, Université Paris 1-Panthéon Sorbonne, 2010.

La première préoccupation de ce dernier est la datation du dépôt humain, par le biais de plusieurs observations :

- Présence de protéine humaine identifiable biologiquement (< 5 ans)
- Présence de graisse dans le tissu spongieux (< 5 ans)
- Présence de tissus mous encore visibles tels que les ligaments tendons (5 à 7 ans)
- Présence d'adipocire dans le canal médullaire (< 20ans)
- Friabilité des os
- ADN

Bien que certains dépôts humains ne laissent aucun doute quant à l'époque, notamment par le mobilier contemporain associé, ces moyens de datation sont pourtant théoriques. En effet, de nombreux dépôts archéologiques (humains et animaux) mis au jour conservent ces caractéristiques organiques et biologiques grâce à la momification artificielle, à l'image des momies égyptiennes (dès 4500 av. J.-C.) ou sud-américaines (dès 5050 av. J.-C.), ou à la momification ou conservation naturelle comme dans les cas de l'homme des glaces Ötzi (4000 av. J.-C.) dans les Alpes italiennes, la fillette Llullaillaco (500 ans BP) en Argentine, l'homme de Tollund (375-210 av. J.-C.) au Danemark ou des dinosaures de plusieurs millions d'années. L'importance de la taphonomie, et notamment du pH du sol, dans la compréhension de la conservation doit alors être soulignée. L'ensemble des processus qui ont affecté les restes humains (dégradation des restes et mouvements dans la tombe), depuis leur dépôt (c'est-à-dire l'enfouissement du cadavre) jusqu'à leur découverte, doit être fortement considéré dans l'étude. L'accès précipité au squelette génère des pertes conséquentes d'informations.

Dans le cadre judiciaire, le conditionnement et l'analyse ne doivent pas constituer les premières interventions sur restes osseux. L'étude du mode de dépôt, par les observations archéologiques de terrain, peut effectivement constituer un motif de discussion des faits prouvant la mauvaise foi ou la culpabilité d'un accusé.

MÉTHODOLOGIE ARCHÉOLOGIQUE DE TERRAIN

Face aux limites méthodologiques, il apparaît une complémentarité des approches d'intervention entre la médecine légale et l'archéologie. L'archéologue va développer la prise en compte du milieu et des méthodes d'inhumation dans son analyse. Le recours à l'archéologie devient alors une nécessité pour la section criminelle de la Gendarmerie^{110,111,112}, confrontée aux limites d'interprétation d'un dépôt humain inhumé ou incinéré^{113,114}.

La compréhension d'un fait, qu'il soit archéologique ou contemporain, repose sur chaque infime indice persistant sur l'os comme dans le sol. En ce sens, l'apport réciproque de l'archéologie à la médecine légale n'est pas négligeable. L'archéologie peut, dans un premier temps, apporter un protocole strict d'intervention sur le terrain et de levée des corps¹¹⁵ :

- Repérage de la structure,
- décapage de la surface,
- premiers enregistrements : relevé graphique, couverture photographique, prise d'altitude du niveau d'apparition,
- fouille et tamisage du comblement,
- fouille minutieuse du squelette,

¹¹⁰ ADALIAN P., SIGNOLI M., LALYS L., ARDAGNA Y., PIERCECCHI-MARTI M.D., DUTOUR O., LEONETTI G. Intérêt de la présence d'une équipe spécialisée pour la levée de corps en anthropologie médico-légale. *Journal de Médecine Légale Droit Médical* 2002 ; 45(7-8) : 375-377.

¹¹¹ GEORGES P. *L'archéologue a-t-il sa place sur la scène de crime ? Localiser, fouiller, prélever les vestiges criminalistiques enfouis. De l'expérience anglo-saxonne au savoir-faire français.* Mémoire du Diplôme Universitaire de Criminalistique, Université Paris-Descartes, 2009.

¹¹² 4^{ème} rencontre des archéologues forensiques européens (EMFA). Le rôle de l'archéologue forensique au sein d'une équipe pluridisciplinaire. IRCGN. 28-29 août 2015.

¹¹³ DUCRETTET F. *et al.* Organisation, méthodes et recherches en archéologie criminalistique à l'institut de recherche criminelle de la gendarmerie nationale. À propos de 20 ans d'expérience. *La revue de médecine légale* 2013 ; 4(1) : 27-37.

¹¹⁴ CHARLIER P., HERVÉ C. Diagnostic rétrospectif en (archéo-)anthropologie médico-légale. *Archéothéma* 2013 ; 27 : 58-64.

¹¹⁵ LEHOËRFF A. Le travail de terrain. *In* : DEMOULE J.-P., GILIGNY F., LEHOËRFF A., SCHNAPP A., *Guide des méthodes de l'archéologie.* 3^{ème} éd. Paris, La Découverte, 2009.

- seconde phase de relevés rendant compte, plus particulièrement, de la situation géographique des présences dans la fosse (ossements et mobilier associé) et de la sépulture dans son environnement : relevé graphique, couverture photographique et prise d'altitude,
- enregistrement via fiches de conservation (position de chaque os, du mobilier, structure...)
- premières observations paléopathologiques *in situ*,
- prélèvements de sédiments localisés (au niveau abdominal, des coxaux et entre les fémurs),
- levée des os par région anatomique,
- fouille et tamisage du sédiment jusqu'au fond de fosse afin de distinguer d'éventuels calcifications permettant une lecture paléopathologique différentielle.

L'enregistrement minutieux de la fosse sépulcrale et des restes humains sur des fiches de conservation archéologique^{116,117} va permettre d'interpréter et de distinguer les types de dépôts (primaire*, secondaire*, individuel*, pluriel*, réduction*, espace colmaté*, espace vide*).

La diagnose est également un domaine dans lequel l'archéologie peut intervenir. En effet, les moyens mis en place par la médecine légale pour la détermination du sexe et de l'âge d'un individu en phase de décomposition avancée ou squelettisé restent encore discutables. Dans le cadre légal, l'estimation de l'âge se fait par le biais d'une radiographie, et plus particulièrement de la main et du poignet pour les sujets de 0 à 22 ans, afin d'observer la maturation osseuse.

Par des méthodes morphologiques et métriques, l'archéologie va apporter de nouveaux moyens d'estimation de l'âge et du sexe des restes osseux, plus fiables, applicable en contexte légal.

¹¹⁶ *Ibid.*

¹¹⁷ COURTAUD P. « Anthropologie de sauvetage » : vers une optimisation des méthodes d'enregistrement. Présentation d'une fiche anthropologique. *Bulletins et Mémoires de la Société d'anthropologie de Paris* 1996 ; 8(3) : 157-167.

Chez les sujets immatures, l'estimation de l'âge se fait à partir de l'éruption dentaire^{118,119,120,121,122} et de la fusion des épiphyses¹²³. Chez les sujets ostéologiquement matures, l'os coxal est primordial et plus précisément la surface sacro-pelvienne iliaque par le biais de quatre observations osseuses développées par Aurore Schmitt*¹²⁴. En cas d'absence de l'os coxal, des observations secondaires sont disponibles : synostose des sutures crâniennes^{125,126}, usure dentaire^{127,128,129} et remaniement osseux^{130,131,132,133,134}.

¹¹⁸ UBELAKER D.H. Estimating age at death from immature human skeletons : An overview. *Journal of Forensic Sciences* 1987 ; 32 : 1254-1263.

¹¹⁹ FEREMBACH D., SCHWIDETZKY I., STLOUKAL M. Recommandations pour déterminer l'âge et le sexe sur le squelette. *BMSAP* 1979 ; 6 : 7-45.

¹²⁰ MOOREES C.F.A., FANNING E.A., HUNT E.E. Age Variation of Formation Stages for Ten Permanent Teeth. *Journal of Dental Research* 1963a ; 42 : 1490-502.

¹²¹ MOOREES C.F.A., FANNING E.A., HUNT E.E. Formation and Resorption of Three Deciduous Teeth in Children. *American Journal of Physical Anthropology* 1963b ; 21 : 205-13.

¹²² ALDUC-LE BAGOUSSE A. Estimation de l'âge des non-adultes : maturation dentaire et croissance osseuse. Données comparatives pour deux nécropoles médiévales bas-normandes. In : BUCHET L. (ed.), *Anthropologie et histoire ou anthropologie historique*. Paris, Actes des 3èmes journées anthropologiques (CRA Valbonne, 28-30 mai 1986), 1988.

¹²³ SCHEUER L., BLACK S. *Developmental juvenile osteology*. San Diego, C.A., Academic Press., 2000.

¹²⁴ SCHMITT A. Une nouvelle méthode pour estimer l'âge au décès des adultes à partir de la surface sacro-pelvienne iliaque. *BMSAP* 2005 ; 17(1-2).

¹²⁵ MEINDL R.S., LOVEJOY C.O. Ectocranial suture closure: a revised method for the determination of skeletal age at death based on the lateral-anterior sutures. *Am J Phys Anthropol.* 1985 ; 68(1) : 57-66.

¹²⁶ MASSET C. *Estimation de l'âge au décès par les sutures crâniennes*. These de Doctorat d'état Université de Paris I, 1982.

¹²⁷ BROTHWELL D.R. *Digging up bones, The excavation, treatment and study of human skeletal remains*. London, British Museum, 1965.

¹²⁸ SMITH B.H. Patterns of molar wear in hunter-gatherers and agriculturalists. *American Journal of Physical Anthropology* 1984 ; 63(1) : 39-56.

¹²⁹ WALKER P., DEAN G., SHAPIRO P., Estimating Age from Dental Wear in Archaeological Populations. In : KELLEY M., LARSEN C.S. (eds), *Advances in Dental Anthropology*. New York, Alan R. Liss, 1991.

¹³⁰ KURKI H. Use of the First Rib for Adult Age Estimation : A Test for One Method. *Int J Osteoarchaeol.* 2005 ; 15 : 342-350.

¹³¹ STECKEL R., LARSEN C.S., SCIULLI P.W. WALKER P.I. *The global history of health project*, 2005. [En ligne] <http://global.sbs.ohio-state.edu/>, consulté le 04.12.2016.

¹³² SUCHEY J.M., BROOKS S.T. *Instruction for using of Suchey-Brooks system for age determination of the males os pubic Instructional materiels accompanying male pubic symphyseal models of the Suchey-Brooks system*. Colorado, Fort Collins, France Casting, 1988.

Pour déterminer le sexe d'une population ostéologiquement mature, la conservation de l'os coxal est de nouveau primordiale. À partir de ce dernier, il est possible d'appliquer :

- la méthode morphologique* de Jaroslav Bruzek¹³⁵,
- la méthode métrique* de Pascal Murail et Jaroslav Bruzek^{136,137}.

En l'absence d'os coxal, une diagnose sexuelle secondaire est possible avec des méthodes telles que le dimorphisme sexuel crânien et mandibulaire. Ce dernier est basé sur l'observation de plusieurs critères : l'homme comporterait une glabelle plus saillante, des insertions musculaires zygomatiques plus marquées, des canines plus larges, une protubérance mentonnière et la région symphysaire plus anguleuses, alors que la femme aurait des traits plus graciles. Ces observations partent du principe qu'une femme est ostéologiquement plus gracile et un homme plus robuste. Proposer un recensement funéraire à partir de telles observations secondaires est fortement discutable compte tenu de la diversité des variabilités morphologiques individuelles et populationnelles¹³⁸. En effet, en archéologie, les méthodes de diagnoses secondaires sont soumises à débat et doivent être considérées seulement comme indicateurs. Ces méthodes sont souvent mises en place à partir de populations cibles, réduisant le taux de fiabilité car le développement dentaire et osseux est conditionné par diverses variables, qu'elles soient environnementales, génétiques ou physiologiques¹³⁹. Toutefois, ces marqueurs sexuels peuvent servir l'identification individuelle.

¹³³ KUNOS C.A., SIMPSON S.W., RUSSELL K.F., HERSHKOVITZ I. First Rib Metamorphosis : Its Possible Utility for Human Age-at-Death Estimation. *AJPA* 1999 ; 110 : 303-323.

¹³⁴ MEINDL R.S., LOVEJOY C.O., MENSFORTH R.P., WALKER R.A. A revised method of age determination using the os pubis, with a review and tests of accuracy of other current methods of pubic symphyseal aging. *Am J Phys Anthropol.* 1985 ; 68 : 29-45.

¹³⁵ BRUZEK J. Proposition d'une nouvelle méthode morphologique dans la détermination sexuelle de l'os coxal. Application à la Chaussée-Tirancourt. *GDR 742. Méthodes d'étude des sépultures. Compte-rendu de la Table Ronde de Saintes* 1991 : 13-21.

¹³⁶ BRUZEK J., MURAIL P. Methodology and Reliability of Sex Determination From the Skeleton. In : SCHMITT A., CUNHA E., MSCI J.P.M. (eds), *Forensic Anthropology and Medicine. Humana Press.* Paris, Springer, 2006.

¹³⁷ Méthode métrique de diagnose sexuelle [En ligne]

<http://projets.pacea.u-bordeaux.fr/logiciel/?id=2>, consulté le 08.05.2017.

¹³⁸ VESCHI S., FACCHINI F. Recherches sur la collection d'enfants et d'adolescents d'âge et de sexe connus de Bologne (Italie) : diagnose de l'âge sur la base du degré de maturation osseuse. *BMSAP* 2002 ; 14 (3-4) : 263-294.

¹³⁹ MANZOOR MUGHAL A., HASSAN N., AHMED A. Bone age assessment methods: A critical review. *Pak J Med Sci.* 2014 ; 30 : 211-215.

À partir de ces lectures anatomiques positionnelles et taphonomiques, de la diagnose ainsi que des prélèvements sédimentaires et organiques, l'archéologie offre des supports d'étude afin de tester des hypothèses relatives aux causes de décès dans divers contextes, en distinguant les lésions traumatiques des pseudo-pathologies¹⁴⁰ et en les classant (accident, provoqués par un tiers, taphonomique), puis de mettre en évidence les limites interprétatives de certains dépôts.

En parallèle, la médecine (et la biologie médicale en général), par ses outils performants tels que la radiographie conventionnelle, le scanner, les dosages élémentaires ou simplement la connaissance du processus mécanique ou de décomposition/putréfaction des corps humains, offre une véritable possibilité de diagnostic rétrospectif complet et une meilleure connaissance des processus physio-pathologiques.

Ainsi, l'union des disciplines sert la compréhension de dépôts squelettisés et réduit les marges d'erreurs archéologiques et judiciaires. Elle implique également une redéfinition légale consensuelle, de nouvelles interrogations éthiques relatives aux corps morts¹⁴¹, à leurs expositions et à leurs études.

¹⁴⁰ PATOU-MATHIS M. Les altérations taphonomiques et les pseudo-pathologies. In : CHARLIER P. (dir), *Ostéo-archéologie et techniques médico-légales : tendances et perspectives. Pour un Manuel pratique de paléopathologie humaine*. Paris, De Boccard, 2008.

¹⁴¹ WALKER P.L. Bioarchaeological Ethics : A Historical Perspective on the Value of Human Remains. In : KATZENBERG M.A., SAUNDERS S.R. (eds). *Biological Anthropology of the Human Skeleton*. Hoboken, NJ, USA, John Wiley & Sons Inc., 2008.

AUGIAS A., BENMOUSSA N., JACQUELINE S., BOUDEAU J., FEMOLANT J.M., NOGEL JAEGER J., WEIL R., MULLER A.L., CHARLIER P. Ante-, péri- ou post mortem ? Profil de fracturation en contexte humide : le cas du dépôt en puits (II^e –III^e siècles apr. J.-C.) de la place du Jeu-de-Paume, Beauvais (Oise). *BMSAP* 2017 ; 29 : 112-119.

Ante-, péri- ou post mortem ? Profil de fracturation en contexte humide : le cas du dépôt en puits (II^e–III^e siècles apr. J.-C.) de la place du Jeu-de-Paume, Beauvais (Oise)

Ante-, Peri-, or Postmortem? Trauma Profiles of Humid Contexts: the Case of Pit Deposition (2nd–3rd c. AD) Beauvais (Oise)

A. Augias · N. Benmoussa · S. Jacqueline · J. Boudeau · J.-M. Femolant · J. Nogel Jaeger · R. Weil · A.-L. Muller · P. Charlier

Reçu le 5 juin 2016 ; accepté le 21 novembre 2016
© Société d'Anthropologie de Paris et Lavoisier SAS 2016

Résumé L'étude archéoanthropologique médico-légale d'un squelette humain mis au jour dans un puits lors des fouilles archéologiques préventives de la place du Jeu-de-Paume à Beauvais avait pour objectif premier la détermination des causes du décès par le biais d'examen biomédicaux des fractures fémorales mises en évidence. La scanographie et la microscopie électronique à balayage ont permis de mettre en lumière les limites de la discipline vis-à-vis de la compréhension du mécanisme fracturaire, mais surtout de pointer l'influence du contexte taphonomique dans la persistance des caractéristiques osseuses péri-mortem. Ce cas ostéoarchéologique illustre la difficulté du diagnostic des traumatismes sur os anciens et précise les mécanismes lésionnels

intervenant sur matrice mixte organique/minérale ancienne, au service de l'anthropologie biologique.

Mots clés Archéologie médico-légale · MEB · Scanner · Anthropologie médicale

Abstract This forensic archaeo-anthropological study focuses on a skeletonized individual unearthed from a well during preventive archaeological excavations at the Place du Jeu de Paume site in Beauvais. The primary aim of this study was to determine the causes of death by biomedically examining the femoral fractures observed. Results of computed tomography scans and scanning electron microscopy performed not only emphasized the limits of these techniques in understanding the fracture mechanisms but also, and especially, highlighted the importance of taphonomic context on the persistence of peri-mortem bone characteristics. This osteoarchaeological case illustrates the difficulties in diagnosing trauma on ancient bones and explores the specific mechanisms that cause lesions in an ancient mixed organic/inorganic matrix, which is particularly useful for biological anthropology studies.

A. Augias · N. Benmoussa · S. Jacqueline · P. Charlier (✉)
Équipe d'anthropologie médicale et médico-légale,
UFR des sciences de la santé (UVSQ, AP-HP),
2, avenue de la Source-de-la-Bièvre,
F-78180 Montigny-le-Bretonneux, France
e-mail : philippe.charlier@uvsq.fr

J. Boudeau · J.-M. Femolant
Service archéologique, ville de Beauvais,
1, rue Desgroux, F-60000 Beauvais, France

J. Nogel Jaeger
Department of Physics, Chemistry and Pharmacy,
Southern University of Denmark, SDU,
Campusvej 55, 5230 Odense M, Denmark

R. Weil
Laboratoire de physique des solides, UMR CNRS 8502,
université Paris-Sud-XI, bâtiment 510, F-91405 Orsay cedex,
France

A.-L. Muller
Département de radiologie, hôpital Saint-Camille,
2, rue des Pères-Camiliens, F-94360 Bry-sur-Marne, France

Keywords Forensic archaeology · SEM · CT-scan · Medical anthropology

Introduction

Les inhumations dans les puits témoignent d'un fait funéraire documenté dès la protohistoire, notamment en France, à l'image des sites du jardin du Luxembourg à Paris [1] datant de la Tène II–III (second âge du fer, environ 460–25 B.P.) [2] ou, plus récemment, d'Entrains-sur-Nohain dans la Nièvre datant des VIII^e–X^e siècles [3]. La difficulté

d'interprétation de ce type de dépôts résulte de la complexité à distinguer une pratique funéraire d'une chute accidentelle ou provoquée (sacrifice, meurtre).

Le cas d'étude provient de fouilles préventives, effectuées en 2012 par l'équipe du service archéologique municipal de Beauvais, sous la direction de Jean-Marc Fémolant, préalablement à des travaux d'aménagement d'un centre commercial. Cette opération archéologique a mis au jour un site antique et notamment une zone d'habitat, située au sud de la place du Jeu-de-Paume, où la fouille d'un puits maçonné de dalles calcaire met en évidence la présence d'un squelette. Par le mobilier et la phase d'abandon du puits, l'individu a pu être daté entre le milieu du II^e siècle et le courant du III^e siècle apr. J.-C.

Bien que le premier objectif de l'étude anthropologique médico-légale de ce squelette fût la détermination du type de dépôt (chute accidentelle, pratique funéraire ou crime) par l'identification des causes de décès, les importantes lésions traumatiques sur les fémurs interpellent par leurs caractéristiques. Les examens biomédicaux servant à répondre à ce premier objectif ouvrent de nouvelles problématiques/réflexions relatives au mécanisme des fractures en fonction du contexte d'inhumation.

Matériel et méthodes

La stratigraphie de ce puits a montré que le squelette reposait à une profondeur de 3,80 m par rapport au niveau de circulation actuel et de 1,65 m par rapport au haut du puits au milieu de très nombreuses tuiles, de fragments de céramiques et d'éléments architecturaux et était recouvert par un lourd dépôt détritique (comblement supérieur du puits et remblais médiévaux, modernes et contemporains, le tout correspondant à 3,80 m d'épaisseur), d'éléments architecturaux (pesant près de 700 kg) et de restes d'enduits peints (Fig. 1). Il est vraisemblable que le puits était encore en usage au moment du dépôt du cadavre (on note en effet un comblement classique à type de sédiments et de détritiques de type domestique). Le recouvrement de celui-ci a coïncidé stratigraphiquement avec la condamnation du puits. Cependant, il semble être resté en eau ou, du moins, gorgé d'humidité jusqu'au moment de la fouille.

Un important pendage du dépôt osseux est constaté puisque l'individu gît tête en bas et membres inférieurs en élévation (sans possibilité d'observer précisément les connexions préservées en raison d'un remplissage particulièrement trouble et dense du puits, et de conditions de fouilles particulièrement difficiles). Il reste possible que certains ossements aient subi des mouvements taphonomiques ultérieurs (passage de fluides verticaux, flottation de petits ossements, blocage d'ossements longs et/ou volumineux le long

des parois, etc.). Plus de 90 % du squelette était conservé, sans perte de substance corticale significative.

Un premier examen anthropologique a permis de déterminer qu'il s'agit d'un sujet masculin [4], âgé entre 24 et 30 ans, grâce à la surface sacropelvienne iliaque [5], à la fusion incomplète des extrémités sternales de la clavicule et à la présence d'une fine ligne de fusion épiphysodiaphysaire sur les extrémités proximales humérales [6]. Sur le squelette, plusieurs variations anatomiques (un début de sacralisation de la cinquième lombaire, un troisième trochanter sur le fémur gauche ainsi qu'un os trigone du talus droit) ainsi que des pathologies bénignes et des marques d'activités (hypervascularisation sur les fémurs et le tibia droit, des appositions périostées, une arthrose débutante au niveau du premier métatarsien gauche, des enthésopathies et lésions arthrosiques sur les os coxaux ainsi qu'une surface articulaire surnuméraire au niveau de l'articulation iliosacrée) ont été observées.

Toutefois, d'importantes fractures fémorales bilatérales avec un détachement des épiphyses retiennent notre attention par leur profil. Bien que ces berges de fractures présentent un bord net, couramment observé lors de fractures post mortem sur os sec, on note une patine, compatible avec une ancienneté des lésions, ainsi qu'une absence de cicatrisation osseuse visible, s'accordant, en théorie, avec des lésions post mortem et/ou péri-mortem, mais surtout une morphologie discrètement spiroïde et la présence de languettes d'arrachement caractéristiques des lésions intervenues sur os frais, soit ante-mortem et/ou péri-mortem [7,8].

Compte tenu des indices osseux contradictoires révélés par l'étude macroscopique, des examens complémentaires d'imagerie médicale et de microscopie ont été réalisés afin de mieux documenter sur le plan anatomique et pathologique ce squelette traumatisé et de mieux comprendre le mécanisme de survenue des lésions fracturaires par le biais d'examens scanographiques (acquisition hélicoïdale sur un scanner 64 barrettes OPTIMA de General Electric ; épaisseur de coupes de 0,625 ; 100 kV ; analyse faite en MPR avec coupes axiales, coronales et sagittales) et de microscopie électronique à balayage (SUPRS 55VD Zeiss, Gemini-Bruker Detector) sur le tiers proximal du fémur gauche, à la jonction entre l'os compact et le spongieux. Par ailleurs, des restes de matières cérébrales étaient encore présents dans la cavité crânienne qui a fait l'objet d'un scanner médical selon le même protocole.

Résultats

L'étude macroscopique a permis, dans un premier temps, de déterminer le profil de ces deux lésions traumatiques : une fracture oblique sous-trochantérienne sur les deux fémurs formant un angle de 42° (D : 4,5 cm de longueur et G :



Fig. 1 Stratigraphie du puits mis au jour lors des fouilles archéologiques préventives de la place du Jeu-de-Paume à Beauvais / *Stratigraphy of the well unearthed during preventive archaeological excavations at the Place du Jeu-de-Paume site in Beauvais*

7,8 cm de longueur), avec traits obliques proximaux, latéraux et postérieurs, réalisant un détachement complet des extrémités proximales ; une fracture au niveau du tiers distal du fémur gauche (3,3 cm de longueur), avec arrachement complet de l'épiphyse distale et trait oblique distal et médial. Des languettes d'arrachement sont visibles sur la face supéromédiale du fémur droit et sur le tiers postérodistal (Fig. 2) et le grand trochanter du fémur gauche, ainsi que des traits de refend, longitudinaux et transversaux, sur la face postérieure

du même os. Le profil de ces traumatismes démontre qu'il s'agit de fractures de flexion [9], s'accordant avec la chute du corps se réceptionnant sur les pieds ou avec la chute d'objets sur des membres supérieurs en élévation (bloqués contre les parois du puits, par exemple, ou flottant en surface de l'eau), ayant entraîné des fractures complètes et le détachement bilatéral des épiphyses proximale (dont une seule est conservée) et distale gauche ; de telles lésions traumatiques se caractérisent par des traits de refend, ainsi que des



Fig. 2 Languettes d'arrachement sur le tiers postérodistal du fémur droit / *Tearing tabs on the posterior distal third of the right femur*

ruptures transversales et longitudinales [9], avec des languettes d'arrachement des parties distales. L'examen scanographique des fémurs et la microscopie électronique à balayage des berges de fracture n'ont pas retrouvé d'argument en faveur de fractures ante-mortem en raison de l'absence de lésions de cicatrisation osseuse (front ostéoblastique, remodelage débutant ou en cours) (Fig. 3).

L'examen scanographique du crâne congelé a mis en évidence un remplissage intracrânien et des cavités sinusiennes de la face par un matériel hétérogène sous la forme de strates multiples ($n = 4$) compatibles avec des résidus de matières cérébrales (dépôts de densité graisseuse) associées à des sédiments (dépôts hétérogènes avec de nombreux éléments calcifiés). L'examen en microscopie optique d'échantillons de cette substance intracrânienne d'aspect graisseux, de coloration gris jaunâtre [10] n'a pas permis de mettre en évidence de reliquat cellulaire (neurone, névroglie), mais un lysat cellulaire aspécifique très fortement altéré, en partie calcifié et occupé par une pullulation mycélienne et bactérienne.

Discussion et conclusion

Les résultats de l'examen en microscopie électronique à balayage, associés à la scanographie, écartent l'hypothèse de fractures ante-mortem au profit de lésions péri-mortem

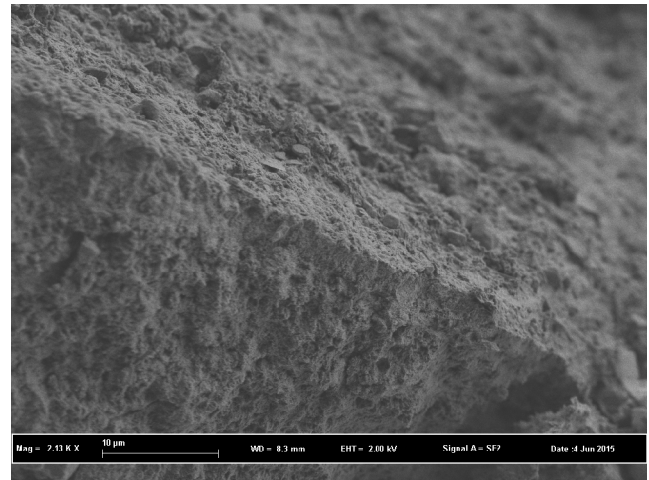


Fig. 3 Examen en microscopie électronique à balayage des berges de fracture (tiers proximal du fémur gauche, à la jonction entre l'os compact et le spongieux) / *SEM examination of the fracture edges (proximal third of the left femur, at the junction between the compact and spongy bone)*

(sur cadavre « frais »). En effet, les surfaces fracturaires présentent un profil patiné (pigmentation comparable à celle des corticales osseuses adjacentes, même érosion discrète), mais l'absence de trace de consolidation et/ou de néoformation osseuse amènent logiquement à considérer ces fractures comme péri-mortem. Toutefois, le contexte humide a pu être à l'origine de l'apparition post mortem des languettes d'arrachement pourtant habituellement observées sur os frais. La résistance, la souplesse et l'élasticité des ossements retrouvés en contexte humide, même avec un très important délai post mortem et une squelettisation complète, ne doivent pas être considérées comme comparables à celles d'ossements enfouis en contexte sec [8–10]. De fait, l'interprétation des lésions traumatiques doit être prudente, le tissu osseux pouvant avoir conservé pendant un temps beaucoup plus long une résistance et une déformabilité comparable à celle intra vitam, démontrant l'importance, tant dans le cadre archéologique que médicojudiciaire, de prendre en compte le milieu d'inhumation dans la lecture d'un dépôt osseux, lequel conditionne non seulement la conservation des indices osseux mais également la persistance des caractéristiques osseuses intra vitam et dirige son interprétation.

Bien qu'il soit difficile de savoir si ces lésions ont pu être à l'origine de la mort de l'individu par un processus hémorragique (section des artères fémorales), diverses hypothèses sont possibles : traumatisme induit lors de la chute de l'individu encore vivant dans le puits (accident, suicide, crime ?), avec une hauteur relative d'au moins 1,65 m au moment des faits, soit en péri-mortem ; projection du cadavre dans le puits (hauteur relative d'au moins 1,65 m au moment des faits). Ou encore un traumatisme induit lors du comblement

du puits, c'est-à-dire à l'occasion de la projection de fragments architecturaux lourds et anguleux (petit monument en calcaire démembré) sur le cadavre à distance des faits, soit en post mortem tardif.

Ce cas met en évidence la difficulté du diagnostic rétrospectif traumatologique sur os en contexte humide, même ancien, du fait de la persistance de la conservation retardée des caractéristiques osseuses péri-mortem et ainsi la possibilité de rapprocher les traces de lésions péri-mortem intervenues sur cadavre « frais » de celles post mortem sur cadavre squelettisé conservé dans un milieu humide. Le milieu de déposition du cadavre a permis alors la conservation de l'humidité relative du microtissu osseux (principalement les fibres de collagène de la matrice extracellulaire) et l'hydratation naturellement perdue lors de la décomposition du corps.

Liens d'intérêts : Les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt.

Références

1. Genet-Varcin E (1964) Étude anthropologique de deux squelettes inhumés dans un puits à sacrifice gaulois, à Paris, dans le jardin

du Luxembourg. [Avec une note de découverte d'A. Höström]. Bull Mem Soc Anthropol Paris 6:497–508

2. Bonnabel L (2012) Les pratiques funéraires au fil du temps. In: Archéologie de la mort en France. Inrap, La Découverte

3. Inrap (2015) Un site archéologique d'exception à Obernai (Bas-Rhin) : plus de 6 000 ans d'occupation [Internet]. Institut national de recherches archéologiques préventives. [Cité le 5 juin 2015]

4. Bruzek J, Murail P (2006) Methodology and reliability of sex determination from the skeleton. In: Schmitt A, Cunha E, MSci JPM (eds) Forensic anthropology and medicine. Humana Press, pp 225–42

5. Schmitt A (2001) Variabilité de la sénescence du squelette humain : réflexions sur les indicateurs de l'âge du décès. Thèse de doctorat, université de Bordeaux-I

6. Scheuer L, Black S, Christie A (2000) Chapter two — Skeletal development and ageing. In: Christie LSB (ed) Developmental juvenile osteology. Academic Press, London, pp 4–17

7. Delabarde T, Ubelaker D, Montaperto K (2014) Les traumatismes osseux. In: Delabarde T, Ludes B (dir.) Manuel pratique d'anthropologie médico-légale. Éditions Eska, pp 168–77

8. Wedel VL, Galloway A (2013) Broken bones: anthropological analysis of blunt force trauma. 2nd Edition. Charles C. Thomas, Springfield, IL, 479 p

9. Ortner DJ (2003) Identification of pathological conditions in human skeletal remains. Academic Press, Elsevier

10. Charlier P (ed) (2008) Ostéoarchéologie et techniques médico-légales. De Boccard, Paris

CHARLIER P., COPPENS Y., AUGIAS A., RENGOT F., DEO S., FROESCH P., HUYNH-CHARLIER I., Mudslide and/or animal attack are more plausible causes and circumstances of death for AL 288 (« Lucy »), (soumis).

Manuscript Details

Manuscript number	YMEHY_2017_525
Title	Mudslide and/or animal attack are more plausible causes and circumstances of death for AL 288 (« Lucy »).
Article type	Full length article

Abstract

PURPOSE: Following a global morphological and micro-CT-scan examination of the original and cast of the skeleton of *Australopithecus afarensis* AL 288 (« Lucy »), Kappelman et al. have recently proposed a diagnosis of a fall from an important height (a tree) as a cause of death for this individual. **METHODS:** According to topographical data from the discovery site, complete reexamination of a high quality resin cast of the whole skeleton, and forensic experience, we propose that the physical process of a vertical deceleration cannot be the only one cause for such observed injuries. **RESULTS:** Two various processes cannot be avoided: rolling and multiple impacts in mudslide context, and attack by an animal with bite marks, multi-focal fractures and violent mobilization of the body. **CONCLUSIONS:** It is important to propose a differential diagnosis of the observed fossil lesions because environmental factors should not be neglected in such an ancient archaeological context. The same conclusions have to be given for any modern forensic anthropological case.

Taxonomy	Anthropological Archaeology, Legal Medicine, Mechanobiology, Traumatology
Corresponding Author	Philippe Charlier
Corresponding Author's Institution	UVSQ
Order of Authors	Philippe Charlier, Yves Coppens, Anaïs Augias, Fanny Rengot, Saudamini Deo, Philippe Froesch, Isabelle Huynh-Charlier
Suggested reviewers	Fabiola BOU ABDALLAH, Francesco Maria Galassi, Antonio Perciaccante

Submission Files Included in this PDF

File Name [File Type]

Lucy.doc [Manuscript File]

Fig1.jpg [Figure]

Fig2a.jpg [Figure]

Fig2b.jpg [Figure]

Fig2c.jpg [Figure]

Conflict of interest.doc [Conflict of Interest]

To view all the submission files, including those not included in the PDF, click on the manuscript title on your EVISE Homepage, then click 'Download zip file'.

Title page

Title

Mudslide and/or animal attack are more plausible causes and circumstances of death for AL 288 (« Lucy »).

Authors

Charlier P (1,2)

Coppens Y (3)

Augias A (1)

Rengot F (1)

Deo S (1)

Froesch P (1)

Huynh-Charlier I (1,4)

Affiliations

1. Section of Medical and Forensic Anthropology (UVSQ, UFR of Health Sciences / Paris-Descartes University EA 4569), 2 avenue de la source de la Bièvre, 78180 Montigny-Le-Bretonneux, France.

2. CASH & IPES, avenue de la République, 92000 Nanterre, France.

3. Collège de France, place Marcelin Berthelot, 75005 Paris, France.

4. Department of Radiology, University Hospital Pitié-Salpêtrière, boulevard de l'hôpital, 75013 Paris, France.

Abstract

PURPOSE: Following a global morphological and micro-CT-scan examination of the original and cast of the skeleton of *Australopithecus afarensis* AL 288 (« Lucy »), Kappelman et al. have recently proposed a diagnosis of a fall from an important height (a tree) as a cause of death for this individual.

METHODS: According to topographical data from the discovery site, complete reexamination of a high quality resin cast of the whole skeleton, and forensic experience, we propose that the physical process of a vertical deceleration cannot be the only one cause for such observed injuries.

RESULTS: Two various processes cannot be avoided: rolling and multiple impacts in mudslide context, and attack by an animal with bite marks, multi-focal fractures and violent mobilization of the body.

CONCLUSIONS: It is important to propose a differential diagnosis of the observed fossil lesions because environmental factors should not be neglected in such an ancient archaeological context. The same conclusions have to be given for any modern forensic anthropological case.

Keywords

Australopithecus afarensis, paleoanthropology, trauma, bioturbation, forensic anthropology, cause of death, taphonomy.

Acknowledgments

To Franz Jullien for providing the surfacic scanning data (Surfaçus, MNHN, Paris); to Alain Froment (IRD, MNHN, Paris) for his help in the preparation of the manuscript.

Text

Introduction

Following a global morphological and micro-CT-scan examination of the original and cast of the skeleton of a 3.2 million years *Australopithecus afarensis* AL 288 (« Lucy »), discovered in Ethiopia in 1974 (**Fig. 1**), Kappelman et al. have recently proposed a diagnosis of a fall from an important height (a tree) as a cause of death for this individual [1]. According to topographical data from the discovery site, forensic trauma experience, and a complete reexamination of a high quality resin cast of the whole skeleton, we propose that the physical process of a vertical deceleration cannot be the only one cause for such observed injuries. Indeed, another two processes cannot be avoided: rolling with multiple impacts in mudslide context, and attack by an animal with bite marks, multi-focal fractures and violent mobilization of the body.

First possible cause of death and/or post-mortem fresh bone trauma: rolling

First, a process of rolling with multiple impacts in mudslide context (as seen in forensic traumatology or mudslides in accident) appears much more plausible than presented by the authors. It also would provide more coherence with the fossilization mechanism for these remains, and their dispersion as observed by one of us (Y.C.): a slight distance of almost 50 to 100 meters on a sedimental thickness of sandy layer of 40 to 50 centimeters [2]. According to the pattern of the fractures, this mechanism would be reached on Lucy's corpse at the moment of death or shortly after (*peri-mortem* period), at least on "fresh" bones, i.e. wet and without loss of collagen substrate [3]. A total of 33 fractures have been observed on the AL 288 skeleton by Kappelman *et al.*, which is reasonably underestimated from the complete trauma score, as the discovered remains represents only 40% of the whole skeleton [4]. The multi-focal trauma, and the mosaic appearance of fractures (torsion, impact, displacement) can merely be explained by multi-directional mechanical forces, as seen in flooding/mudslide/landslide with high stream flow velocity causing rolling/distortion of the corpse and multi-impaction with the soil, fix masses (possible impalement), and moving objects (fast-flowing waters carrying boulders and fallen trees, for the most frequent) [5].

Kappelman *et al.* state in their "Supplementary material" that trauma lesions cannot be those occurring in the context of flooding, referring only to the case of cadavers having stayed a long time in water (fresh or salt, for that matter) with progressive dislocation... Such circumstances are not consistent with the post-mortem interval for AL 288, even if a partial dispersion of the cadaver parts with bone trauma could have occurred days or weeks after death [3]. Moreover, the cited publication [6] is particularly old (1983) and corresponds to data published before the use of systematic post-mortem CT-scan that authorizes to diagnose of many more bone injuries [7].

Second possible cause of death and/or post-mortem fresh bone trauma: crocodile attack

Second, AL 288 was collected from a sandstone zone yielding a variety of other fossils such as crocodile and turtle eggs, rodent skulls and crab claws [8]. Two small depressions (puncture defects/marks) on the superior surface of the superior pubis ramus just posterior to the pubic symphysis (**Fig. 2a**), and on the inferior aspect of the ischial tuberosity (**Fig. 2b**), separated from a distance of 79,76 mm (**Fig. 2c**), are clearly visible. Their morphology is fully consistent with carnivore tooth marks, including crocodile bites (circular depressed depression with a conic sectional shape, well defined margins with punched in appearance), that are classically isolated from section zones presenting as classical fractures [9], whatever the diagnosis of an impact mark caused by a sharp object penetrating into the body at the moment of death or near after (*peri-mortem* interval) remains possible. Out of the bite marks, multi-focal fractures have been described at the occasion of crocodile and wild animals attacks (hyenas, lions, jaguars, etc.), due to violent mobilization of the body by the animal [10,11]. The gracility of the skeleton may explain the importance of the bone trauma, comparatively to modern adult humans; indeed, one of the most influential factors that most effectively decide whether a victim is injured or killed in a crocodile

attack is the difference in body mass between crocodile and victim [12]. In any case, rodeo and farm injuries presented by Kappelman *et al.* as comparative data are everything but consistent for such complex bone trauma from a 3.2 million-year-old skeleton.

Conclusion

When considering such ancient remains, one has to be particularly prudent: indeed, there are so many possible causes of death that could be postulated for a 3.2 million year old skeleton - and one only partially complete! - that speculation as to differentiating between two or three possibilities may be for all practical purposes pointless. It has to be said that such diagnoses remain hypotheses; it is equally likely that Lucy died of natural causes and all of her skeletal injuries could be explained by post-mortem predation and/or any number of taphonomic processes related only to the huge length of time between death and discovery [13].

Nevertheless, according to a comparison with the bitemarks left in bone in fatal crocodile attacks in modern times - for which there are a number of case reports in the forensic literature, the injuries described as bitemarks on the skeleton of Lucy clearly meet forensic criteria for naming them as such.

Lastly, it is important to propose a differential diagnosis of the observed fossil lesions because environmental factors should not be neglected in such an ancient paleontological context. Single indentations in the skeleton may indeed be caused by teeth, but may also equally likely be caused by a myriad of other taphonomic mechanisms over the last 3.2 million years. There is also no evidence to confirm that these marks were made peri-mortem - they could just as likely have been inflicted by some natural means post-mortem (falling rocks, skeleton being tossed around in water/mud and impacting hard objects, etc). The same conclusions have to be given for any modern forensic anthropological case.

References

1. Kappelman, J. *et al.* Perimortem fractures in Lucy suggest mortality from fall out a tall tree. *Nature* 2016;Aug 29. doi: 10.1038/nature19332.
2. Johanson, D., White, T.D. & Coppens, Y. A new species of the genus *Australopithecus* (Primates: *Hominidae*) from the Pliocene of Eastern Africa. *Kirtlandia* **28**, 1-14. (1978).
3. Wedel, V.L. & Galloway, A. Broken bones: anthropological analysis of blunt force trauma. 2nd Edition. Springfield, IL: Charles C. Thomas. (2013).
4. Johanson, D.C. *et al.* Morphology of the Pliocene partial hominid skeleton (A.L. 288-1) from the Hadar Formation, Ethiopia. *Am J Phys Anthropol.* **57**, 403–451 (1982).
5. Llewellyn M. Floods and trauma. *Surg Clin N Am* **86**, 557-78 (2006).
6. French, J., Ing, R., Von Allmen, S. & Wood, R. Mortality from flash floods: a review of National Weather Service Reports, 1969-81. *Public Health Rep.* **98**, 584-588 (1983).
7. Bollinger, S.A. & Thali, M.J. Imaging and virtual autopsy: looking back and forward. *Philos Trans R Soc Lond Biol Sci.* **370**(1674) (2015).
8. Johanson, D.C. *et al.* Geological framework of the Hadar formation. In Bishop WW (ed.), *Geological background to Fossil Man.* Scottish Acad. Press, pp. 549-64. (1978).
9. Chattopadhyay, S., Shee, B. & Sukul, B. Fatal crocodile attack. *J Forensic Legal Med.* **20**, 1139-41 (2013).
10. Bury, D., Langlois, N. & Byard, R.W. Animal-related fatalities. Part I: characteristics autopsy findings and variable causes of death associated with blunt and sharp trauma. *J Forensic Sci.* **25**(2), 370-4 (2012).
11. Campos Neto, M.F., Garrine Neto, D. & Haddad, V. Attacks by jaguars (*Panthera onca*) on humans in central Brazil: report of three cases, with observation of a death. *Wilderness Environ Med.* **22**, 130-5 (2011).
12. Fukoda, Y., Manolis, C., Saalfeld, K. & Zuur, A. Dead or alive? Factors affecting the survival of victims during attacks by saltwater crocodiles (*Crocodylus porosus*) in Australia. *PLoS One.* **10**(5), e0126778 (2015).
13. Block S, Saltré F, Rodriguez-Rey M, et al. Where do dig for fossils: combining climate-envelope, taphonomy and discovery methods. *PLoS One.* **11**(3), e0151090 (2015).

Legend of figures

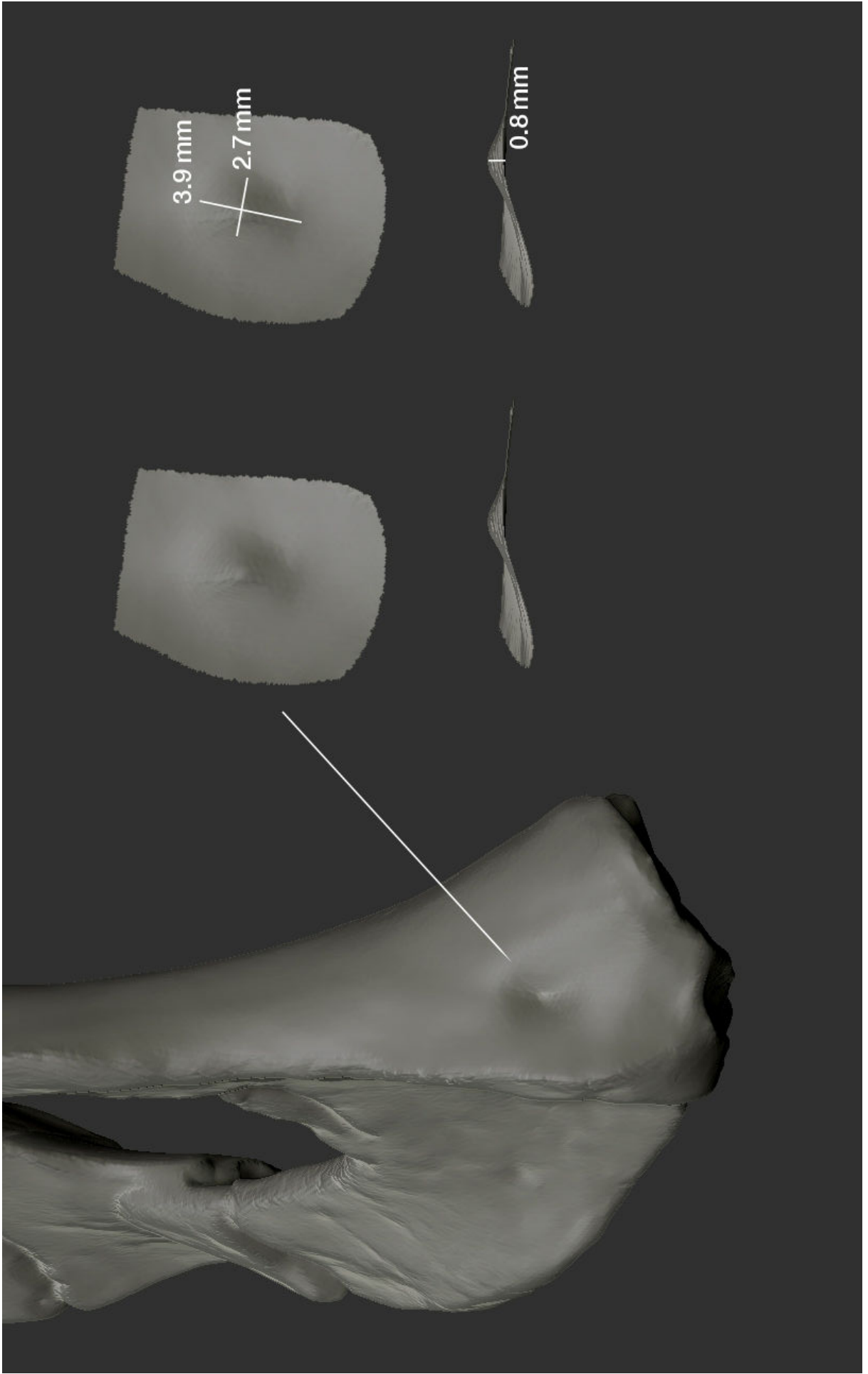
Figure 1. General aspect of the whole skeleton of AL 288 « Lucy ».

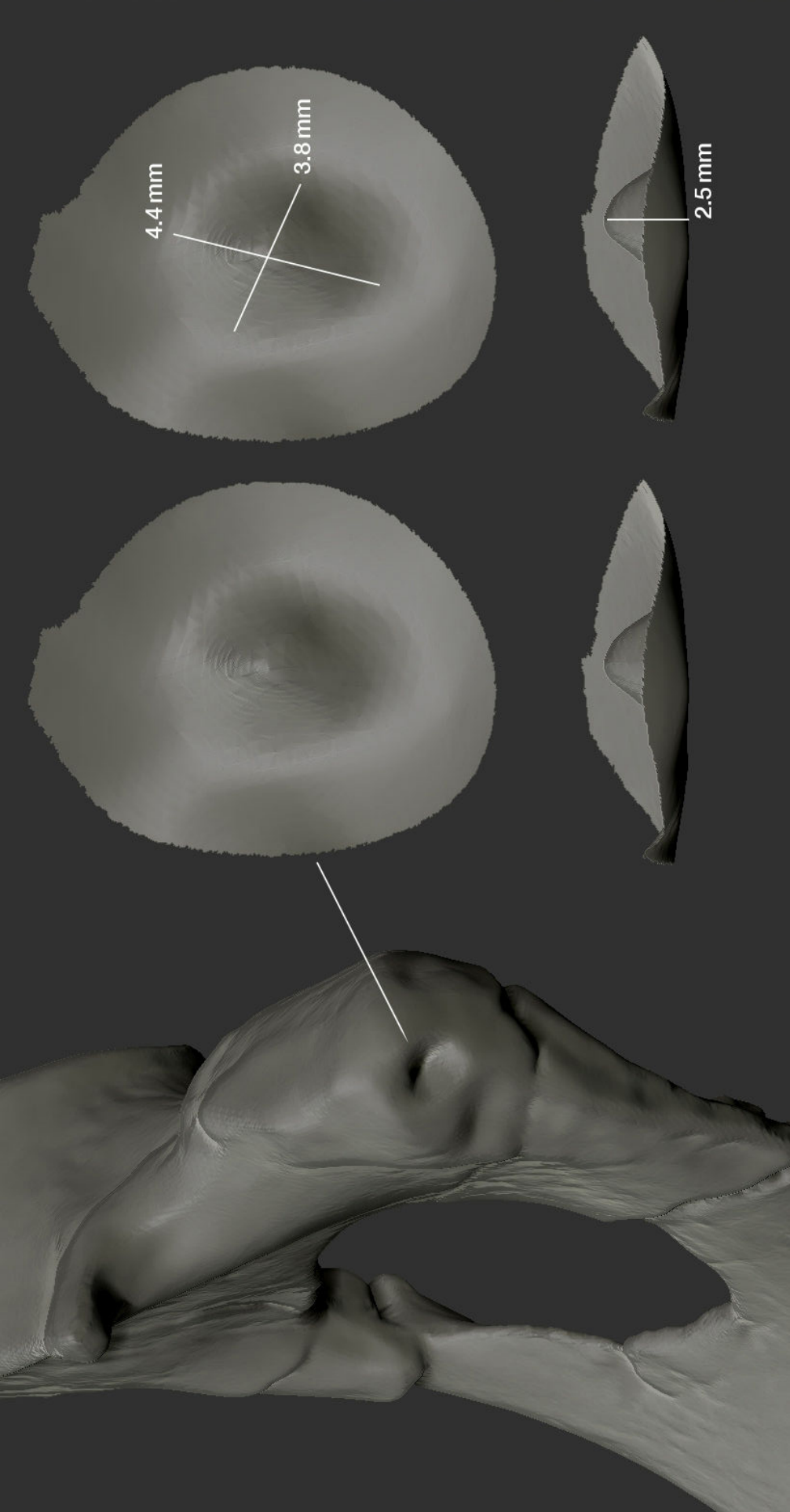
Figure 2a. 3D reconstruction of the peri-mortem defect on the superior surface of the superior pubis ramus just posterior to the pubic symphysis (AL 288 « Lucy » left coxal bone), with measured dimensions of the lesion.

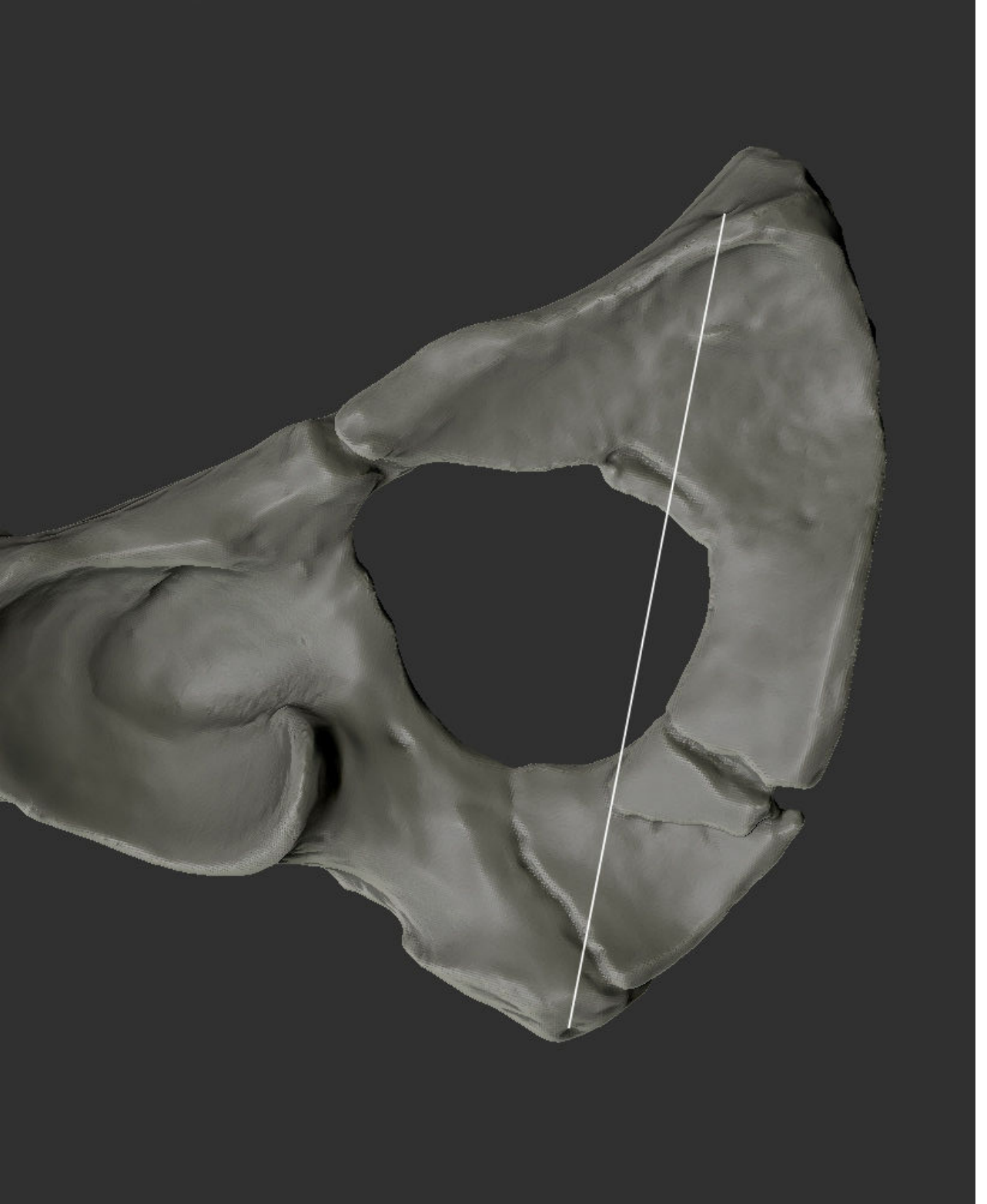
Figure 2b. 3D reconstruction of the peri-mortem defect on the inferior aspect of the ischial tuberosity (AL 288 « Lucy » left coxal bone), with measured dimensions of the lesion.

Figure 2c. External view of the 3D-surfacic scanned right coxal bone of AL 288 (“Lucy”). The distance between the two bone trauma (small depressions) is highlighted by a grey line.









Compliance with Ethical Standards

Funding: None

Conflict of Interest: All authors declare that they have no conflict of interest relative to the subject of this article.

Ethical approval (humans): This article does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors (patient is a paleontological pre-human fossil).

Informed consent: Non applicable (patient is a paleontological pre-human fossil).

3.2 De l'exposition à la relecture

Au niveau national, les pièces exposées ou archivées dans les musées, les universités, les hôpitaux ou les services archéologiques sont innombrables. Bien que maintes fois étudiées, elles ne doivent pas être considérées comme « mortes » et dénuées de toute forme d'enseignement. Les néo-disciplines, à la périphérie de plusieurs domaines scientifiques à l'instar de l'archéo-biologie ou l'archéologie médico-légale, associées aux avancées technologiques permettent alors une relecture perpétuelle des hypothèses scientifiques antérieurement définies et amènent le débat autour de cas archéologiques, historiques ou médicaux déjà traités.

Ces cas anciens vont ainsi permettre d'établir des modèles lésionnels ou une méthodologie d'étude applicable en contexte médical et médico-légal. Il est alors possible de pratiquer des analyses biologiques sur des dépôts muséaux (étuis péniens, pièces anatomiques conservées dans du formol) et archéologiques (prélèvements latrinaires, funéraires). Puis, par le biais de la radiographie, les volumes disparus peuvent être restitués, à l'instar des corps de Pompéi ou du cerveau dans le cadre d'une découverte de crâne. En contexte archéologique, ces démarches vont permettre l'appréhension de l'évolution parasitaire et cérébrale humaine. En médecine, elle offre une méthode d'identification de victimes ou de causes de décès grâce au diagnostic pathologique.

Les connaissances instaurées par nos prédécesseurs scientifiques associées aux outils technologiques contemporains performants, et en continuelle évolution, aident à la compréhension de divers aspects lésionnels ainsi que de modèles analytiques, qu'ils soient visibles (traumatiques, congénitales, létales, handicapantes ou chirurgicales) via les scanners médicaux, et/ou invisibles (intoxication, traitement médicaux, parasites) via l'analogie ethnographique ainsi que les analyses toxicologiques et microbiologiques.

De ce fait, ce matériel reste et doit rester un support d'enseignement majeur plusieurs années, décennies ou siècles plus tard, servant tant les problématiques tant anciennes qu'actuelles.

CHARLIER P., BOU ABDALLAH F., BRUNEAU R., JACQUELINE S., AUGIAS A.,
BIANUCCI R., PERCIACCANTE A., LIPPI D., APPENZELLER O., RASMUSSEN K. Did
the Romans die of antimony poisoning? The case of a Pompeii water pipe (79 AD), (soumis).

Manuscript Number:

Title: Did the Romans die of antimony poisoning? The case of a Pompeii water pipe (79 AD)

Article Type: Correspondence

Keywords: History of medicine; environmental hazards; volcanic soils; chronic poisoning; lead; antimony.

Corresponding Author: Dr. Philippe Charlier, MD PhD LittD

Corresponding Author's Institution: UVSQ / AP-HP

First Author: Philippe Charlier, MD PhD LittD

Order of Authors: Philippe Charlier, MD PhD LittD; Fabiola Bou Abdallah; Raphaëlle Bruneau; Sophie Jacqueline; Anaïs Augias; Raffaella Bianucci; Antonio Perciaccante; Donatella Lippi; Otto Appenzeller; Kaare Rasmussen

Abstract: The fall of the Roman Empire has been investigated and numerous theories have been proposed for its demise, beginning with chronic lead intoxication due to water pipes. In this short letter, we show that contamination of the waters in Pompeii was not likely to have been due to lead but rather the result of antimony (Sb) leakage into the water because lead pipes used to conduct water in Roman times were joined using antimony.

We used a segment of water pipe fragment excavated in 1875 from House of the argentarius (merchant banker) Lucius Caecilius Jucundus in Pompeii, now held in a private collection. We analyzed the fragment by ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry). The antimony concentration in the ancient water pipe sample was found to be $\pm 3,680$ $\mu\text{g/g}$ corresponding to 0.368 wt % of the bulk weight of the pipe (versus ± 5.63 $\mu\text{g/g}$ for the ground control sample).

We propose that, due with the extensive use of antimony in Roman plumbing, an acute or sub-acute intoxication with antimony may have occurred. We suggest, however, further studies (including antimony level analyses in human bones and coprolites) to support our theory.

Compliance with Ethical Standards

Funding: None

Conflict of Interest: All authors declare that they have no conflict of interest relative to the subject of this article.

Ethical approval (humans): This article does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors.

Informed consent: Non applicable.

Did the Romans die of antimony poisoning? The case of a Pompeii water pipe (79 AD)

Charlier P (1,2), Bou Abdallah F (2), Bruneau R (2), Jacqueline S (2), Augias A (1), Bianucci R (3,4,5), Perciaccante A (6), Lippi D (7), Appenzeller O (8,9), Rasmussen K.L. (10)

1. Department of Consultations and Public Health, Max Fourestier Hospital, 403 avenue de la République, 92000 Nanterre, France.
2. Section of Forensic and Medical Anthropology (UVSQ & EA4569 Paris-Descartes), UFR of Health Sciences, 2 avenue de la Source de la Bièvre, 78180 Montigny-Le-Bretonneux, France.
3. Legal Medicine Section, Department of Public Health and Paediatric Sciences, University of Turin, Italy.
4. Warwick Medical School, Microbiology and Infection Division, University of Warwick, United Kingdom.
5. UMR 7268, Laboratoire d'Anthropologie bio-culturelle, Droit, Etique & Santé (Adés), Faculté de Médecine de Marseille, France.
6. Department of Medicine, "San Giovanni di Dio" Hospital, Gorizia, Italy.
7. Department of Experimental and Clinical Medicine, University of Florence, Italy.
8. New Mexico Health Enhancement and Marathon Clinics Research Foundation, 361 Big Horn Ridge Dr. NE, Albuquerque, NM, USA.
9. New Mexico Museum of Natural History and Science, 1801 Mountain Road NW. Albuquerque NM, USA.
10. Department of Physics, Chemistry and Pharmacy, University of Southern Denmark, Campusvej 55, DK-5230 Odense M, Denmark.

Abstract

1
2 The fall of the Roman Empire has been investigated and numerous theories have been
3
4 proposed for its demise, beginning with chronic lead intoxication due to water pipes. In this
5
6 short letter, we show that contamination of the waters in Pompeii was not likely to have been
7
8 due to lead but rather the result of antimony (Sb) leakage into the water because lead pipes
9
10 used to conduct water in Roman times were joined using antimony.
11
12

13
14 We used a segment of water pipe fragment excavated in 1875 from House of the argentarius
15
16 (merchant banker) Lucius Caecilius Jucundus in Pompeii, now held in a private collection.
17
18

19 We analyzed the fragment by ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry). The
20
21 antimony concentration in the ancient water pipe sample was found to be $\pm 3,680 \mu\text{g/g}$
22
23 corresponding to 0.368 wt % of the bulk weight of the pipe (versus $\pm 5.63 \mu\text{g/g}$ for the ground
24
25 control sample).
26
27

28
29 We propose that, due with the extensive use of antimony in Roman plumbing, an acute or
30
31 sub-acute intoxication with antimony may have occurred. We suggest, however, further
32
33 studies (including antimony level analyses in human bones and coprolites) to support our
34
35 theory.
36
37
38
39
40

Key words

41
42 History of medicine; environmental hazards; volcanic soils; chronic poisoning; lead;
43
44 antimony.
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

1
2 **Text**
3

4 The fall of the Roman Empire has always been investigated and numerous theories have been
5 proposed for its demise. In his book “Reflections on the Causes of the Rise and Fall of the
6 Roman Empire”, Montesquieu (1734) was the first to hypothesize that the fall of Rome was
7 the result of massive intoxication due to lead water pipes. Lead would have provoked a
8 general state of chronic lead poisoning. By the twentieth century, this theory gained
9 popularity among several scientists who tried to prove it (Aufderheide, 1992; Gilfillan, 1965;
10 Kobert, 1909; Nriagu, 1983).
11

12 However several modern authors dismantled this theory (Dessales, 2013; Hodge, 1981; Retief
13 and Cilliers, 2006; Scarborough, 1984), Dessales demonstrated that calcite deposits in the
14 inside wall of the pipes over time prevented lead transfer to the running water. Furthermore,
15 Vilagines and Leroy (1995) have shown the formation of a coat of lead carbonate and
16 hydroxy-carbonate in the interior of lead water pipes by oxidative corrosion for both corrosive
17 and scaling waters. Consequently, contamination risk only posed around the time of creation
18 and/or renovation of the general hydraulic system, extending to a period of several weeks to
19 few months, no more.
20

21 We show that health concerns in Pompeii were most likely the result of antimony (Sb)
22 intoxication.
23

24 We used a segment of water pipe fragment excavated from House of Caecilius Jucundus
25 (Pompeii) in 1875 (Figure 1), now held in a private collection. We analyzed the fragment by
26 ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry). This method is able to detect
27 some metallic and non-metallic elements even at very low concentrations (Skytte and
28 Rasmussen, 2013). The concentrations of the trace elements from the ancient water pipe are
29 given in $\mu\text{g/g}$ (equal to parts per million) or occasionally in wt % and are compared to those
30 of a control sample of soil from the same site (modern sampling) (Table 1).
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

1 The antimony concentration in the ancient water pipe sample was found to be $\pm 3,680 \mu\text{g/g}$
2 corresponding to 0.368 wt % of the bulk weight of the pipe (versus $\pm 5.63 \mu\text{g/g}$ for the ground
3 control sample).
4

5
6
7 This is an alarming level because antimony is easily leached from the lead water pipe, and
8 antimony poses a serious health hazard, as demonstrated by a study conducted on loops of
9 lead pipes containing twenty Sn/Sb joints soldered by antimony. Barely detectable initially
10 (less than 0.004 ppm), antimony concentration in the water running through the pipes reached
11 a level of 0.01 ppm in 4 days, and of 0.068 ppm within four weeks (corresponding to 0.068
12 mg/L) (Murrell, 1987). This effect has not been reproduced by other studies due to the
13 variability of experimental conditions such as water pH, debit, and concentration of antimony
14 in the pipes.
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25

26 The European guidelines set the threshold of antimony concentration in drinking water at
27 0.005 mg/L (Société Chimique de France, 2016); beyond that concentration, symptoms of
28 antimony intoxication may appear. Acute intoxication by ingestion of antimony causes
29 serious symptoms involving mainly the digestive system with vomiting and diarrhoea leading
30 to dehydration, which could be fatal because of acute cardiac insufficiency (Kaplan and
31 Korff, 1937; Miller, 1982).
32
33
34
35
36
37
38
39
40

41 Particular attention should be paid to acute intoxication by stibine (SbH_3) a highly toxic
42 chemical compound derived from the reaction of antimony with H^- equivalents or even water.
43 Acute exposition to stibine induces severe hemolysis and potentially fatal renal failure
44 (Bellama and MacDiarmid, 1986).
45
46
47
48
49
50

51 Animal models show the lethal effect of antimony. In four rabbits given potassium antimony
52 tartrate at 15 mg/kg of body weight per day for 7-22 days, this resulted in haemorrhagic
53 lesions in the stomach and small intestine, liver atrophy with fat accumulation and congestion,
54 haemorrhage in the renal cortex, with some tubular necrosis, suggesting a Lowest Observed
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

1 Adverse Effect Level (LOAEL) of 5.6 mg/kg of body weight per day (Pribyl, 1927). Another
2 study on rats that received a single dose of 300 mg.kg⁻¹ potassium antimony tartrate resulted
3 in their death, assumed to be due to myocardial failure (Bradley and Frederick, 1941).
4 Because even brief exposures to high levels of antimony is fatal in animal models, there is a
5 serious risk of antimony being toxic also to humans in the same dynamics, i.e. at a much
6 faster rate than observed with lead. Thus, transfer of antimony from water pipes to the
7 running water, before calcite deposits develop inside the plumbing, poses a serious risk of
8 antimony toxicity.
9

10 Stibnite (Sb₂S₃), antimony sulphate, is one of the numerous minerals that are present in the
11 soils of Somma-Vesuvius (Costabile, De Vivo and Rolandi, 2004). One of the main natural
12 sources of Sb is volcanic activity. A recent study has shown that high concentrations of Sb are
13 associated to volcanic eruptions (Chaitén Volcano, South Chile) and accumulate in sediments
14 at the mouth of the rivers surrounding the volcanic area, mainly in the form of Sb (III)
15 deriving from ashes (Quiroz et al. 2016). Major elements and trace elements are quickly
16 transferred from ash into the environment leading to extremely high concentrations in waters
17 (Jones and Gislason, 2008)
18

19 The explosive eruption of Somma-Vesuvius AD 79 almost completely buried the ancient
20 landscape around Pompeii preserving, to a certain extent, the pre-AD 79 Roman paleosols of
21 the Sarno River plain (Vogel and Märker, 2014). Foss (1988) and Foss *et alii* (2002) analyzed
22 pre-AD 79 paleosols in the Pompeii area and demonstrated that they show little disturbance or
23 destruction. The stratigraphic sequence of this area is particularly composed of volcano-
24 clastic deposits from the periodic activity of Somma-Vesuvius as well as soil formations
25 during phases of volcanic quiescence (Vogel and Märker, 2014).
26

27 The paleosols were very similar to the modern soils suggesting a similar environment for soil
28 development before and after AD 79. The paleosols developed in pumice and ash similarly to
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

1 the present-day soils. However, the paleosols had a higher pH value and a higher nutrient
2 content (Foss, 1988). Foss (1988) and Foss et al. (2002) hypothesized this to be the result of
3
4 bases (Ca^{2+} , Mg^{2+}) leaching from the overlying volcanic sediments and recharging the
5
6 surface horizons of the paleosols (Vogel and Märker, 2014).
7

8
9 The aqueduct of Pompeii was served by a multi-system groundwater network known as «
10 Sarno River plain», which received waters from the river Sarno, from the surrounding massifs
11 and from the area of the Somma-Vesuvius (Vogel and Märker, 2014). Therefore, the presence
12
13 of high concentrations of antimony in the pipes can be expected in this area both in historic
14
15 and modern times; the environmental antimony added to the one released by the lead pipes,
16
17 makes the occurrence of water poisoning and consequent intoxication even more plausible.
18
19

20
21 We propose that with the extensive use of this metal in Roman plumbing, an acute or sub-
22
23 acute intoxication with antimony may have occurred at a collective scale. We strongly suggest
24
25 further studies (including antimony level analyses in human bones and coprolites) to verify
26
27 this groundbreaking theory.
28
29
30
31
32
33
34
35
36

37 **Acknowledgements**

38
39 We are indebted to Lilian Skytte and Pia Klingenberg Hausmann for assistance in the
40
41 laboratory work. Raffaella Bianucci thanks the Wellcome Trust (202792/Z/16/Z) for support
42
43 of her research activity at Warwick Medical School, University of Warwick (UK).
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

1
2 **References**
3
4
5

6 Aufderheide A.C., Rapp G., Wittmers L.E., Wallgren J.E., Macchiarelli R., Fornaciari G.,
7 Mallegni F., Corruccini. R.S., 1992. Lead exposure in Italy: 800 BC-700 AD. *Int J Anthropol*
8 *7*: 9–15.
9
10
11
12
13
14
15

16 Bellama, J. M., MacDiarmid, A.G., 1968. Synthesis of the Hydrides of Germanium,
17 Phosphorus, Arsenic, and Antimony by the Solid-Phase Reaction of the Corresponding Oxide
18 with Lithium Aluminum Hydride. *Inorganic Chemistry* **7** (10): 2070–2072.
19
20
21
22
23
24
25

26 Bradley W.R., Frederick W.G., 1941. The toxicity of antimony: animal studies. *Am Ind Hyg*
27 *Assoc J.* 10:15-22.
28
29
30
31
32

33 Costabile S., De Vivo B., Rolandi G., 2004. Environmental geochemical mapping of soils of
34 Somma-Vesuvius volcanic complex. *Mem. Descr. Carta Geol. d'It.* 68, 7-66.
35
36
37
38
39

40 Dessales H., 2013. *Le Partage de l'eau. Fontaines et distribution hydraulique dans l'habitat*
41 *urbain de l'Italie romaine*, Rome. Ecole française de Rome, Bibliothèque des Écoles
42 Françaises d'Athènes et de Rome.
43
44
45
46
47
48
49

50 Foss J.E. (1988) Paleosols of Pompeii and Oplontis. In: Curtis, R.L., Ed., *Studia Pompeiana*
51 *and Classica*, Aristide D. Caratzas, Publisher, New Rochelle.
52
53
54
55
56
57

58 Foss J.E., Timpson, M.E., Ammons, J.T. and Lee, S.Y. (2002) Paleosols of the Pompeii Area.
59 In: Jashemski, W.F., Ed., *The Natural History of Pompeii*, Cambridge University Press,
60
61
62
63
64
65

Cambridge, 65-79.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

Gilfillan S.C., 1965. Lead Poisoning and the Fall of Rome. *J. Occup. Med.* 7: 53-60.

Hodge A.T., 1981. Vitruvius, lead pipes and lead poisoning. *Am J Archaeol.* 85(4): 486-491.

Jones M.T, Gilsason N., 2008. Rapid releases of metal salts and nutrients following the deposition of volcanic ash into aqueous environments. *Geochim. Cosmochim. Acta* 72: 3661-3680.

Kaplan E., Korff F.A., 1936. Antimony in food poisoning. *Food research* 1: 529-536.

Kobert R., 1909. Chronische Bleivergiftung im klassischen Altertume. *Beitrage aus der Geschichte der Chemie, dem Gedachtnis von Georg W.A. Kahlbaum.* Leipzig and Vienna, Deuticke, pp. 103-109.

Miller J.M., 1982. Poisoning by antimony: a case report. *South. Med. J.* 75, 592.

Montesquieu C.S., 1734. *Considérations sur les causes de la grandeur des Romains et de leur décadence*, seventh ed. Librairie CH Delagrave, Paris.

Murrell N.E., 1987. Impact of metal solders on water quality. *Proceedings of the annual conference of the American Water Works Association, Part 1.* Denver American Water Works Association. 39-43.

1 Nriagu J.O.,1983. Lead and Lead Poisoning in Antiquity. John Wiley & Sons, New York.

2
3
4 Nriagu J.O., 1983. Saturnine Gout among Roman Aristocrats. Did Lead Poisoning Contribute
5 to the Fall of the Empire? N. Eng.J. Med. 660-663.
6
7

8
9
10
11 Pribyl E., 1927. On the nitrogen metabolism in experimental subacute arsenic and antimony
12 poisoning. J. Biol. Chem. 74: 775-781.
13
14

15
16
17
18 Quiroz W., Astudillo F., Bravo M., Cereceda-Balic F., Vidal V., Palomo-Marín M.R., Rueda-
19 Holgado F., Pinilla-Gil E., 2008. Antimony speciation in soils, sediments and volcanic ashes
20 by microwave extraction and HPLC-HG-AFS detection. Microchemical Journal 29: 111-116.
21
22
23

24
25
26
27 Retief F.P., Cilliers L., 2006. Lead poisoning in ancient Rome. Acta Theologica. 26(2), 147–
28 164.
29
30

31
32
33 Scarborough J.,1984. The myth of lead poisoning among the Romans: An essay review. J.
34 Hist. Med. Allied. Sci. 39(4): 469-475.
35
36

37
38
39
40 Skytte L., Rasmussen K., 2013. Sampling strategy and analysis of trace element
41 concentrations by inductively coupled plasma mass spectrometry on medieval human bones-
42 the concept of chemical life history. Rapid Comm Mass Spectrom. 27(14): 1591-1599.
43
44
45
46

47
48
49
50
51 Société Chimique de France, 2016, Antimoine.

52
53
54
55 <http://www.societechimiquedefrance.fr/antimoine.html> (accessed 23.12.16).
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

1 Vilagines R., Leroy P., 1995. Lead in drinking water, determination of its concentration and
2 effects of new recommendations of the World Health Organization (WHO) on public and
3 private networks management. Bull. Acad. Natl. Med. 179(7), 1393-408.
4
5
6
7
8

9 Vogel S., Märker, M., 2014. Analysis of post-burial soil developments of pre-AD 79 Roman
10 paleosols near Pompeii (Italy). Open J Soil Sci. 4, 337-356.
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

Table 1. Results of the ICP-MS analysis. The analysis was performed on a sample weighing 41.4 mg, which was procured by cutting from the water pipe with a scalpel, and 40 mg of ground control sample. Each samples were dissolved in 4 mL concentrated 65 % ICP-MS grade nitric acid and 1 mL concentrated 30 % ICP-MS grade hydrogen peroxide and subsequently diluted to 10 mL in 1 % nitric acid. Each solution was then diluted 100 times with 1 % nitric acid. For the water pipe, the main constituent was Pb. The concentrations of the trace elements are given in the table in $\mu\text{g/g}$ (ppm). The uncertainties quoted represents one standard deviation. The upper limits are limits of detection.

Element	Lead pipe	Ground control sample
Na	< 3.4	9,581
Mg	105 \pm 57	8,557
Al	191 \pm 2.4	14,902
Ca	< 13,700	2.67
Mn	< 2.20	309
Sr	< 3.06	101
Ag	29.9 \pm 0.13	418
Sn	7,872 \pm 86	52.2
Sb	3,681 \pm 12	5.63
W	68	11,493

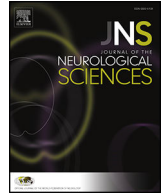
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

Ba	< 3.52	168
Au	< 0.30	< 0.30
Pb	494,687	2,702
U	< 0.36	2.5
Fe	< 15.9	10,350
Zn	< 3.66	27.02
Cr	< 2.96	3.69
Co	< 0.76	4.70
Ni	< 1.80	7.10
Cu	500 ± 78	26.16
Ga	< 0.7	2,501
As	32.8203	2.43

Figure 1
[Click here to download high resolution image](#)



CHARLIER P., HUYNH-CHARLIER I., FROESCH P., RUSSELL S., BENMOUSSA N., FROMENT A., GRIMAUD-HERVÉ D., DEO S., AUGIAS A., ALBESSARD L., BALZEAU A. The brain of René Descartes (1650) : A neuro-anatomical analysis. *Journal of the Neurological Sciences* 2017 : 378 : 12-18.



The brain of René Descartes (1650): A neuro-anatomical analysis



Charlier Philippe ^{a,b,*}, Huynh-Charlier Isabelle ^c, Froesch Philippe ^a, Shorto Russell ^d, Benmoussa Nadia ^a, Froment Alain ^e, Grimaud-Hervé Dominique ^f, Deo Saudamini ^a, Augias Anaïs ^a, Albessard Lou ^f, Balzeau Antoine ^f

^a Section of Medical and Forensic Anthropology, UFR of Health Sciences, UVSQ, EA 4569 Paris-Descartes, 2 avenue de la source de la Bièvre, 78180, Montigny-Le-Bretonneux, France

^b CASH & IPES, Boulevard de la République, 92000, Nanterre, France

^c Department of Radiology, University Hospital Pitié-Salpêtrière (AP-HP), Boulevard de l'hôpital, 75013 Paris, France

^d John Adams Institute, West-Indisch Huis, Herenmarkt 97, 1013 EC Amsterdam, The Netherlands

^e Department Hommes-Natures-Sociétés, UMR 208 (IRD), National Museum of Natural History, Musée de l'Homme, Paris, France

^f Section of Human Paleontology, UMR 7194 (CNRS), Department of Prehistory, National Museum of Natural History, Musée de l'Homme, Paris, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 26 February 2017

Received in revised form 17 April 2017

Accepted 19 April 2017

Available online 20 April 2017

Keywords:

Forensic anthropology
Individual identification
Retrospective diagnosis
Endocast
Neuroanatomy
Virtual reconstruction

ABSTRACT

The skull of René Descartes is held in the National Museum of Natural History since the 19th c. Up to date, only anthropological examinations were carried out, focusing on the cranial capacity and phrenological interpretation of the skull morphology. Using CT-scan based 3D technology, a reconstruction of the endocast was performed, allowing for its first complete description and inter-disciplinary analysis: assessment of metrical and non-metrical features, retrospective diagnosis of anatomical anomalies, and confrontation with neuro-psychological abilities of this well-identified individual.

© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

In order to obtain data about human brains that have now disappeared, details of neuroanatomy reproduced on endocranial casts (endocasts) from skeletonized skulls may now be described and interpreted. Even if speculative, such data may be informative when carried out in light of contemporary medical literature on comparative neuroanatomy and functional imaging studies. Cerebral cortex visible on the endocast is investigated in light of available data on the variation of human sulcal patterns. Since the second part of the 19th c., case reports have been published about the anatomical correlates of intelligence through detailed necropsic case studies of the brains of outstanding people, such as the mathematician Karl F Gauss, physician William Osler, composer John Sebastian Bach, writer Ivan Turgenev, philosopher René Descartes, and other important scholars [1–3]; studies focused on brain weight and volume, and patterns of gyral

convolutions (when conserved), without any reference group or precise medical data at the moment of death for many of the studied individuals. In the last decade, CT-scan technology has been successfully applied to paleo-anthropology, especially for virtual examination of the endocranial morphology and geometric morphometrics [4–6].

As stated by Witelson et al., “resolving the neurobiological substrate of intelligence may be facilitated by the comparison of extreme cases with control groups within the framework of specific hypotheses” [7]. Descartes' brain no longer exists, but its original skull is now conserved in the National Museum of Natural History (Paris, France) and by applying techniques developed from paleoanthropology and forensic anthropology, previously unknown details of its external neuroanatomy have been identified. Such information should be of interest to paleoneurologists, comparative neuroanatomists, historians of science, and cognitive neuroscientists.

2. Material and methods

The skull of René Descartes is now conserved in the National Museum of Natural History (Musée de l'Homme, Paris, France) (Fig. 1). Its authenticity is now confirmed by the larger scientific community [8].

* Corresponding author at: Section of Medical and Forensic Anthropology, UFR of Health Sciences, UVSQ, EA 4569 Paris-Descartes, 2 avenue de la source de la Bièvre, 78180, Montigny-Le-Bretonneux, France.

E-mail address: philippe.charlier@uvsq.fr (C. Philippe).



Fig. 1. Frontal view of the skull of René Descartes (picture by J.C.Domech, MNHN, Paris).

2.1. Historical background of the skull of René Descartes

The French philosopher René Descartes died and was buried in Stockholm, in 1650. Sixteen years later, a Cartesian group in Paris started a movement demanding to have his remains disinterred and brought back to Paris. Hugues de Terlon, the French ambassador to Sweden in 1666, oversaw the digging-up of the remains, and had them kept in his official residence in Stockholm, protected by Swedish soldiers. The main reason for the deputation of Swedish soldiers was the growing reputation of Descartes who was, by then, beginning to be seen as the patron saint of science, and it was rumoured that others (the English, in particular) were interested in his remains. Terlon, an avid collector of religious relics, was allowed by the Catholic church in Sweden to keep one bone with himself: that of the right index finger. Terlon then had the coffin sealed and arranged for two of his staff-member to transport it to Paris.

In Paris, the remains of the great philosopher were re-buried, with great pomp, in the church of Sainte-Geneviève-du-Mont. During the Revolution, Alexandre Lenoir supposedly retrieved the Descartes remains and had them kept in the museum in an attempt to conserve monuments and relics that were to be housed in his Musée des Monuments Français; from there, they were eventually interred in the church of St.-Germain-des-Prés.

However, evidence suggests that the skull did not accompany the rest of the remains in the coffin when they left Sweden. In 1818, when the remains were about to be reburied in St.-Germain-des-Prés, scholars from the Académie des Sciences witnessed the opening of the coffin. They found no skull inside. It so happened that the great Swedish chemist Berzilius was in Paris at the time as a visiting scholar, and attended the ceremony. In 1821, back in Stockholm, he came across a newspaper account of the auction of the estate of Anders Sparrman, the Swedish scientist. Among Sparrman's artifacts, said the paper, was "the skull of the famous Cartesian".

Berzilius found that the skull had been bought by a Swedish casino operator. He convinced the man to sell it to him, and he sent it to the Académie, particularly to the great biologist Georges Cuvier. The Académie then began investigating the skull to try to determine whether it was really that of Descartes. The committee of the Académie gave the task of researching to Alexandre-Maurice Blanc de Lanautte, comte d'Hauterive, an archivist in the office of foreign affairs. Hauterive was

able to find a Swedish work from the mid-1700s citing a chain of ownership of the purported skull of Descartes.

This chain of ownership began with a man named Isaak Planström. Planström had been the captain of the Swedish guard entrusted with the task of guarding the remains of Descartes while they were at the Terlon residence in Stockholm. Hauterive discovered that, in 1750, a school headmaster named Sven Hof, from the town of Skara, had written about seeing the skull of René Descartes at Jonas Olofsson Bång's house, who was his colleague. With the object came a story. The skull had come down to Bång from his father, a brewer and merchant named Olof Bång whose business was located at the Haymarket in Stockholm. He apparently had a debtor named Planström who'd died without paying him, and so he was forced to accept some of the dead man's items as payment. Among these items was the skull of Descartes. The elder Bång supposedly had told his son that Planström had been the captain of the guard in Stockholm responsible for guarding the remains of Descartes before they were returned to France. Planström had kept the skull because he felt that Sweden should not "completely lose the remains of such a famous person." Bång said that the guardsman kept the skull for the rest of his life. Bång in turn kept it for the rest of his life, and passed it to his son. Presumably, either one of the Bångs is responsible for the script, in Swedish, found on the forehead of the skull, which says: "The skull of Descartes, taken by J. Fr. Planström, the year 1666, at the time when the body was being returned to France".

The younger Bång narrated this story to his friend Hof and then apparently announced his wish to find appropriate words to adorn the object, whereupon, Hof said, Bång wrote down a few commemorative verses in Latin which were later inscribed onto the top of the skull. Hof's account included the Latin lines, which are identical to those on the skull in the possession of the Académie.

Berzelius, in his letter to Cuvier, noted the various names adorning the skull, some of which were illegible or only partly legible, and suggested that it should be possible to work out from them a history of the skull's journey in Sweden. In the 1860s and 1870s, a man named Peter Liljewalch attempted to do track this journey. Liljewalch was born in the Swedish city of Lund, became a medical doctor, joined the army, and eventually retired to his native city, where he charted the Swedish owners of the skull of René Descartes.

In the summer of 2006, one of the authors of this article (R.S.) visited the manuscript division of the University of Lund library, and viewed the collection marked "Liljewalch." Liljewalch's handwritten sheets followed the lives of those men that who'd once possessed the precious skull. According to his notes, the cranium made its way from the younger Bång to a military man named Johan Axel Hägerflycht, who kept it until his death in 1740. When his goods were dispersed, the skull fell into the hands of a government official named Anders Anton Stiernman. His is one of the names still visible on the skull, on the right side, along with the year 1751. When Stiernman died, his son-in-law, Olof Celsius, found himself as its owner, and placed his own signature on the occipital bone, at the lower back.

From Celsius, the skull passed to Johan Fischerström, an "economic superintendent" in Stockholm, who kept it in his cabinet of curiosities. Fischerström kept the skull until his death in 1796. At the auction of his property, it was bought by a tax assessor named Ahlgren, whose signature can now barely be seen behind the site of left ear.

From Ahlgren, the skull passed to the scientist Anders Sparrman, who had travelled with Captain Cook and had served as a professor at the School of Surgery in Stockholm.

Based on this chain of evidence (Table 1), the Académie des Sciences concluded that the skull, which is now in the possession of the Musée de l'Homme, was most likely that of Descartes [8].

2.2. CT-scan examination

For the purposes of the present study, the skull was CT scanned with a General Electric High Speed HAS scanner at the Pitié-Salpêtrière

Table 1

Outline of points of the arguments in favour of the skull's authenticity (i.e. attribution to René Descartes).

Descartes remains were transferred from Stockholm to Paris in 1666, and buried in Sainte-Geneviève-du-Mont.
In 1818, when the coffin was opened in order to rebury the remains in the church of St.-Germain-des-Prés, it was discovered that there was no skull.
In 1821, Berzilius, the Swedish scientist, learned that the skull of Descartes was sold at auction. Berzelius bought the skull and sent it to the Académie des sciences.
The Académie des sciences conducted an investigation, and discovered a Swedish account of the passage of the skull from 1666 to 1821.
This account listed owners of the skull. Information in the account matches with evidence on the skull itself, which contains names of purported owners as well as other writing.

University Hospital in Paris (120 kV, 80 mA s, scan time 3 s). The full three-dimensional image stack consists of 332 contiguous, 1 mm thick slices in the coronal plane. The images have a pixel matrix of 512×512 , and with a field of view (FOV) of 23 cm the pixel size is 0.45 mm. Although more recent medical and industrial CT can now be used to obtain higher-resolution images, slices of 1 mm can allow for a useful and insightful reconstruction of the main anatomical structures considered in this analysis such as endocranial surfaces, sinuses, or supraorbital morphology [6,9,10]. The CT scans do not show any noticeable artifacts such as beam hardening or scattering with the exception of some inframillimetric metallic artifact enclosed within the skull vault sutura originating from a previous endocranial volume measure using metallic balls.

2.3. Neuro-anatomical description

Endocast reconstruction was carried out using a recent methodology [11]: all Dicom® data from the skull axial computerized tomography (CT-scan) were imported into Osirix Dicom viewer (Pixmeo® Geneva, Switzerland) and exported in.obj format to Zbrush® 3D package (Pixologic® USA). The external polygons of the skull were destroyed

to reveal the arachnoid “stamp”, access the endocranium volume, and reconstruct electronically the endocast, representing the 3D surface of the imprints left by the brain on the internal surface of the skull, with its superficial associated vascularization.

The accuracy of the surface reconstructions are mainly determined by the spatial resolution of the CT data set, which is adequate to visualize vascular, sulcal and gyral impressions of Descartes' endocast. Thus, the slice thickness and pixel size used here are a good compromise between obtaining sufficient spatial resolution, and the time-consuming process of isolating the virtual endocast.

A complete anatomical description of the endocast of Descartes is given. Complete description and definition of the vascular, gyral and sulcal impressions are detailed elsewhere [12]. Classic metric measurements were performed using sliding and spreading callipers on the physical endocasts, and on the virtual model of Descartes thanks to dedicated software (Avizo). We have measured the maximal length of the endocast (noted LM), its maximal width (WM), its maximal width as measured on Broca's cap (WB) and its endobasion-endovortex height (HM). A principal component analysis was done with PAST 3 software [13]. For this analysis, all morphometric data were scaled relatively to each individual's endocranial volume in order to limit bias in global brain size variation. We have also quantified the pattern of fronto-occipital petalia and asymmetry of the third frontal convolution thanks to previous methodologies [14–16].

Comparative samples include physical endocasts of the collections of the National Museum of Natural History in Paris (France), and consist of 102 endocasts of extant modern humans [17,18]. The individuals were non-pathological adults. Sex has not been determined for all the specimens of the sample, but the *sex ratio* is probably biased. This collection seems to comprise more males than females, based on the specimens whose sex is known. Most specimens are from recent historical times, with the majority from the last two centuries. The geographic origin of these specimens is diverse, including 39 Europeans, 24 from the Pacific area, 15 Africans, 13 Asians, 8 native-Americans.

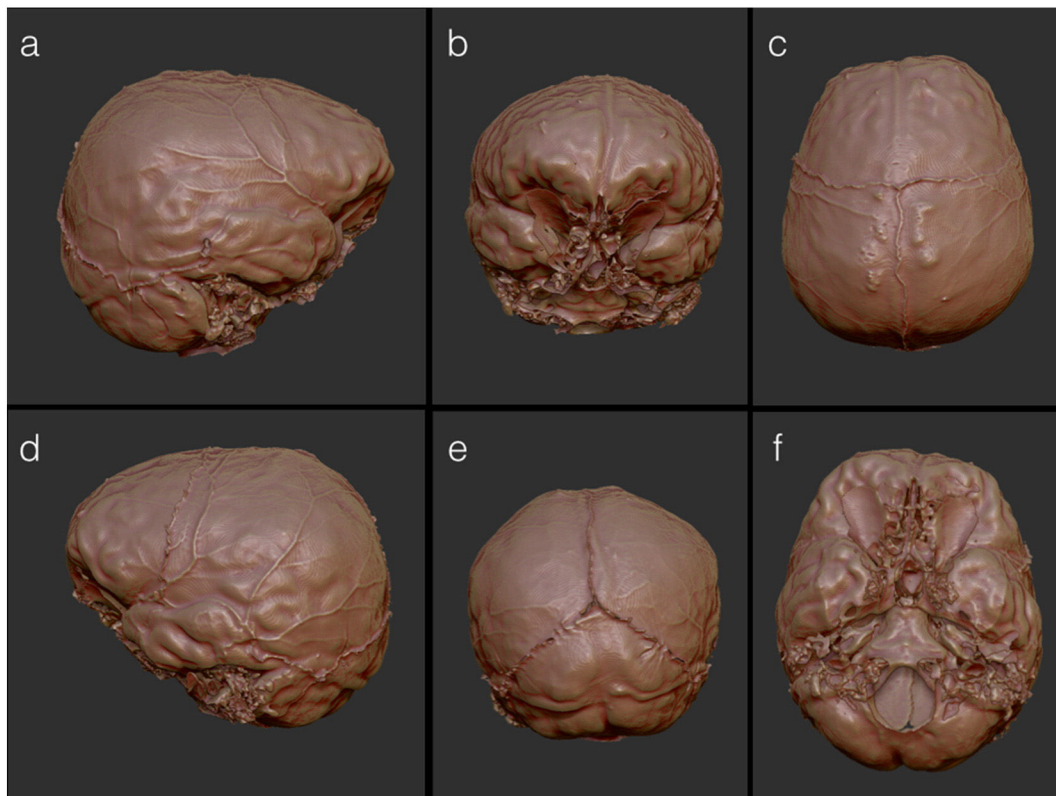


Fig. 2. Anatomical views of the reconstructed brain of Descartes (endocast). A: right lateral. B: frontal. C: superior. D: left lateral. E: posterior. F: inferior.

Endocranial asymmetries were observed through the mapping of the measurement of the distance between the original endocast and a mirrored endocast, after alignment of the models using mid-sagittal landmarks and automatic alignment in Geomagic 2012. The distances were mapped in Avizo 6 using a chromatic scale adapted to the range of values observed (0 to 5.03 mm), with the mirrored endocast depicted in white to render the direction of the asymmetries.

3. Results

3.1. Overall morphology

The complete cerebral surface is preserved and sulcal impressions and meningeal vessels are easily discernible (Fig. 2). The endocast is ovoid in superior view. It is relatively short (mean maximal length 166 mm). Its maximal width (133 mm) is located in the medial part of the supramarginal gyri. The maximal width at the level of the Broca's cap is 105.5 mm. The basion-vertex height is 132 mm. The endocranial volume is 1540 cm³ [3].

3.2. Vascular impressions

Concerning the venous sinuses, there is no evidence of the sphenoparietal sinuses. The superior sagittal sinus is visible between the frontal lobes where its width increases antero-posteriorly. The sinus is still visible between the parietal lobes where it is bordered bilaterally by large granular foveolas located in the anterior third of the parietal lobes. The relief of the sinus is more apparent posteriorly and propagates slightly on the right parietal lobe. It is less visible between the occipital lobes but deviates apparently laterally into the right transverse sinus. The width of the transverse sinus increases along its course. The right sigmoid sinus constitutes a marked relief. The left transverse sinus appears in the area of the confluence of the sinuses; its width and relief are more important than on the right side.

Concerning the meningeal vessels, the common tract of the middle meningeal system is obvious on the left side on the inferior surface of the temporal lobes from where it enters the skull through the foramen spinosum. It is less visible on the right side, but some imprints would indicate that it follows a similar orientation. The middle meningeal system shows some variations on both hemispheres. On the left side, the common tract splits in two branches on the antero-inferior extension of the superior temporal gyrus close to the temporal pole. The most anterior branch corresponds to the anterior branch of the middle meningeal system. This imprint continues in the area of the Sylvian valley and shows some ramifications on the third frontal convolution. The other branch has a horizontal course and splits into two equal rami on the middle temporal gyrus. The corresponding anterior (or bregmatic) ramus runs close to the coronal suture. The posterior (or lambdatic) branch arising from the common tract follows a horizontal course. This branch splits in two rami that reach respectively the anterior and the posterior part of the parietal lobe, where both show some ramifications. These two branches are equally large and show a similar extension. On the right side, it is the anterior (or bregmatic) ramus that covers most of the surface of the parietal lobe. Only a small ramus of the posterior (or lambdatic) branch covers the most posterior part of the parietal lobe.

Granular foveola (i.e. granulations of Pacchioni) are visible as imprint near the sagittal suture, eroding the internal cranial surface and form a regular depression ($n = 10$); they present a circular shape with a diameter of 4 to 10 mm.

3.3. Sulcal and gyral imprints

On the frontal lobes, the transverse curvature is regularly convex in anterior view, except where granular foveolas form a bulky relief in the inter-hemispheric area. This curvature is more circular on the left side due to an apparent larger development of the anterior extension of

the parietal lobe. The encephalic rostrum is very short and wide, with a small inferior projection. Short and deep depressions clearly delimit the three frontal convolutions on both sides. Concerning the third frontal convolution, the sulci that delimitate it have a similar distribution on both sides. The ascending and anterior rami delimit clearly the triangular part. The latter is depressed by the incisor cap. The bulge in the area where the Brodmann area 45 would be located is in its inferior part, separated from the temporal pole by a very narrow space. The Sylvian valley is continued posteriorly by some clearly visible depressions on both sides that correspond to the lateral sulcus. The course of these sulci is linear and almost horizontal.

Concerning the temporal lobes, they maintain a regular height on both sides from the pole to the parieto-occipital sulcus. The superior temporal sulcus is the least apparent but it clearly delimitates the superior temporal gyrus on both sides. Short and deep depressions delimit clearly the middle and inferior temporal gyri. The fourth and fifth temporal gyri are delimited all along their length by several depressions. These two last sulci are parallel. In inferior view, the right temporal lobe is larger antero-posteriorly.

On the parietal lobes, the transverse curvature seen in anterior view is very angular with the more lateral projecting points situated at the supramarginal gyri. The curvature is regularly convex from the base of the temporal lobes to the superior part of the inferior parietal gyrus. The angulation is more pronounced on the right side. It is then concave due to a wide and shallow depression in the area of the interparietal sulcus. The superior parietal gyri form a wide and large bulge. The width of the ascending parietal gyri seems to be more important than the width

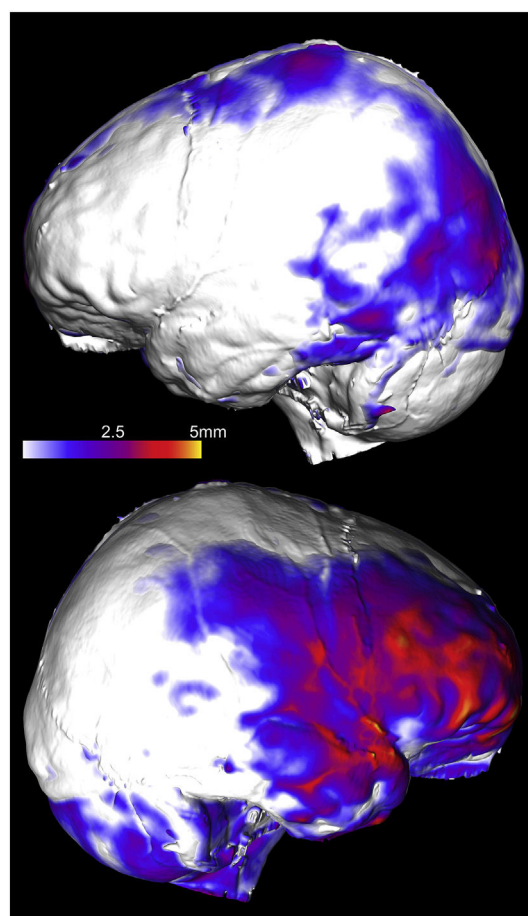


Fig. 3. Bilateral differences in the extension of the left and right hemispheres rendered using a chromatic scale that goes from very light blue (0 mm) to yellow (5 mm) in left and right lateral views, the model is shown in white when it is the contralateral side that is the largest. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

of the ascending frontal gyri, but their precise extension cannot be determined because the sulci that delimitate them are not well printed in the parasagittal area.

The interparietal sulcus is more obvious on the left side. The interparietal sulci delimit the superior parietal gyri whose width decreases antero-posteriorly. The borders of the supramarginal gyri are clearly discernible. This gyrus is circular in shape with a strong convexity. The primary intermediate sulci constitute a shallow depression. The supramarginal gyrus is larger and more clearly delimited on the right side. The angular gyri form a clear relief on both sides. The parieto-occipital sulcus is not visible.

The occipital lobes are below the parietal lobes and the sagittal curvature at the junction of these lobes is regularly convex in lateral view. The occipital lobes are weakly projected posteriorly and are triangular in shape. The left occipital lobe also protrudes medially on the right side of the mid-sagittal plane of the endocast in superior view. This lobe is globally larger than on the right side.

The cerebellar lobes are below the temporal and occipital lobes, in a posterior position relative to the cerebrum, and are ovoid in shape. The horizontal fissure is formed by small depressions on both cerebellar lobes. The inter-hemispheric space is small.

3.4. Endocranial asymmetries

A pattern of right frontal-left occipital petalia is visible [16]. Moreover, the frontal lobe has a more pronounced anterior and lateral extension in superior view. In detail, the right frontal pole is located 2.1 mm anteriorly to the left pole and the left occipital pole projects 1.1 mm behind the right one [14]. The hemispheric length is approximately equal on both sides (R: 166.5 mm, L: 165.5 mm). The supramarginal and angular gyri are well delimited on both sides and their relief is more pronounced on the left side. The bulge in the area where Brodmann area 45 would be located is more developed on the left side, causing a narrower Sylvian valley. The third frontal convolution is significantly longer and larger on the right side compared to the left side [15] (Fig. 3).

4. Discussion

The endocast of Descartes displays the classical anatomical features of *Homo sapiens* [12,17,18] relative to other hominin species [19]. In the vascular impressions, no speno-parietal sinus is observed among the analyzed sample, and the middle meningeal system shows a large expansion on the parietal lobes. At the level of sulcal and gyral imprints, the encephalic rostrum is always short on extant humans. Frontal reliefs are marked and well delimited, especially the reliefs of the third frontal convolution. The frontal and temporal lobes are nearly joined. Posteriorly, the lateral sulcus is rectilinear and nearly horizontal. Parietal gyri are well delimited, especially the large and convex first parietal convolution inferiorly limited by the depressed interparietal sulcus. The reliefs of the second parietal convolution are also well marked as is the supramarginal gyrus, which exhibits a rounded shape. The occipital lobes and the cerebellar lobes are bilaterally close to each other on extant humans. The occipital lobes are situated in an anterior position, below the parietal lobes.

The different dimensions quantified on the endocast of René Descartes are within the range of variation observed in our sample of extant modern humans [17,18]. In the PCA computed with the size-corrected values of endocranial measurements, Descartes is located in the inferior distribution of the extant human samples, but well within its variation (Fig. 4). The first PCA axis represents for 58.4% of the variance and the second for 21.6%. As a result, the position of Descartes may be explained by its relatively important height, compared to relatively lower width and length. Indeed, the absolute value for Descartes is just above the mean of the extant sample for the height (mean 124.2 mm) and below the mean values for the length (mean 170.2 mm) and the width (mean 136.2 mm for WM and 105.8 mm for WB).

Franz Joseph Gall's phrenology dismissed at the end of the 19th c. as pseudoscience [20] – visual inspection and measurement of a fifth of Einstein's brain, and on photographs taken in 1955 after the autopsy, brought to light that Einstein's inferior parietal lobules were larger than those of normal-intellect controls from the brain bank at McMaster

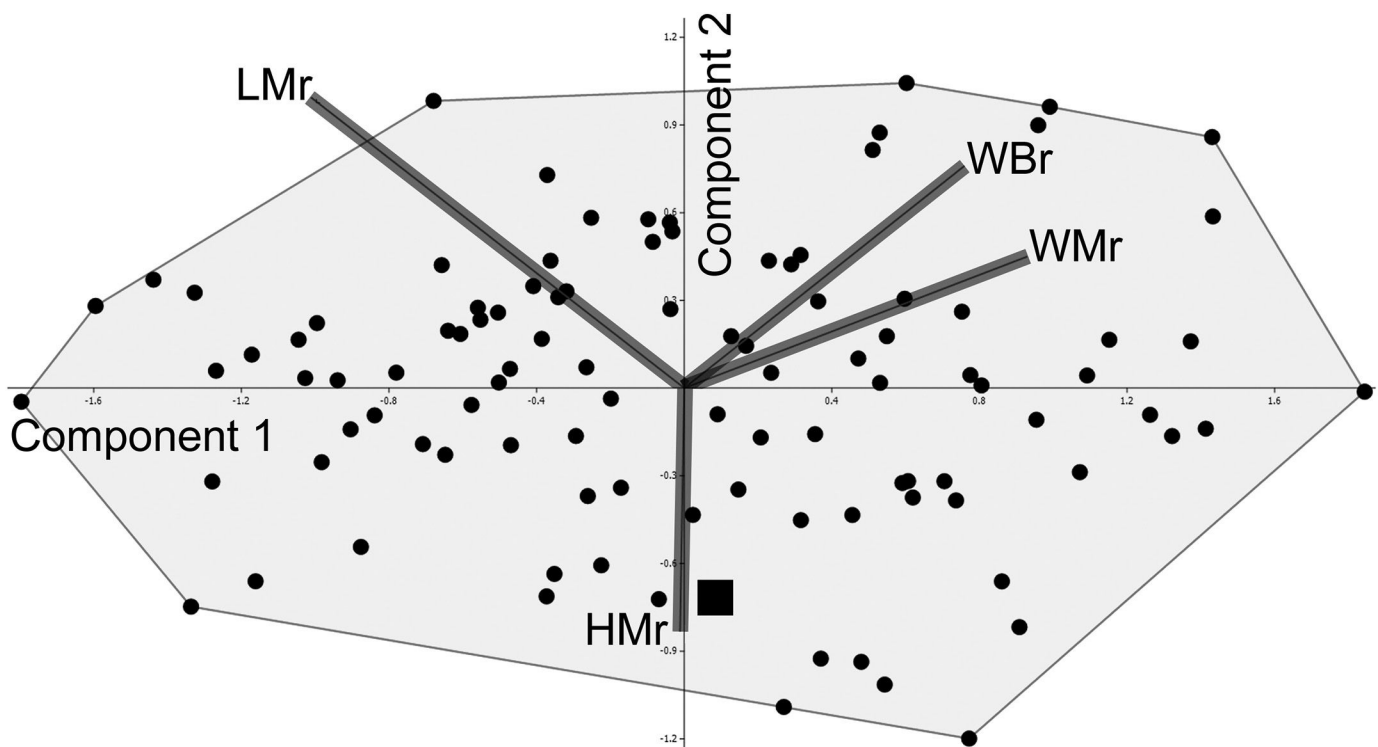


Fig. 4. First and second principal components (representing, respectively, 58.4% and 21.6% of the total variance) of the PCA computed with the size-corrected values of endocranial measurements (maximal length noted LMr, maximal width noted WMr, maximal width at the Broca's cap noted WBr, and endobasion-vertex height HMr). René Descartes corresponds to the red square (lower part of the figure).

University, USA [7]: this probable early development of the posterior parietal lobes displaced to the front the posterior end of the Sylvian fissure, pushing it into the post-central sulcus, and stopped the development of the parietal opercula. As a consequence, within the inferior parietal lobule, the supra marginal gyrus was undivided by a major sulcus. Was this absence of division the cause of a more efficient axonal connectivity, described by Witelson et al. as “an extraordinary large expanse of highly integrated cortex within a functional network” [7]? Indeed, according to modern cognitive neuroscience, the inferior parietal lobule is associated with visuospatial cognition, mathematical thought, and movement imagery [21]. Falk argued that atypical aspects of Einstein’s primary somatosensory and motor cortices may have been related to the difficulty with which he acquired language, his preference for thinking in sensory impressions rather than in words, and his training in the violin [22]. Some spoke then of Einstein, the “parietal genius” or “parietal-lobe prodigy” [23]. But it must be mentioned that according to some scholars, due to considerable biases of observation and sampling, “studies of both the cellular structure of Einstein’s brain and its external morphology have demonstrated nothing that distinguishes it from brains of more intellectually average individuals or reflects his particular intellectual abilities” [24].

Descartes has to be considered as a paradigmatic neurologic individual/patient/celebrity or an “intellectual giant”. Unfortunately, for evident conservative reasons, no clinical examination and/or complementary examinations can be carried out anymore, such as electroencephalography, evoked potentials, positron emission tomography (PET) or functional magnetic resonance imaging (fMRI). But endocast examination may help in the evaluation of neuro-anatomical variations and global organisation.

Exceptional neuro-psychological abilities may be associated with cortical symmetries or asymmetries that depart from those of normal controls, whatever the sex of these controls [25]. For example, the better performances of musicians with perfect pitch are associated with relatively enlarged left planum temporale [26], and early commencement of musical training is sometimes associated with pronounced structural differences in hand representations [27] that are reflected in cortical sulcal patterns [28]. Professional keyboard players have deeper and more symmetrical (in terms of depth) central sulci within their sensori-motor hand representations than normal controls, which could be related to increased skill of the non-dominant hand as a result of early training [29,30]. At a microscopic level, the cytoarchitecture of BA 44 was more symmetric in the brain of polyglot Emil Krebs than in controls, while that of his BA 45 was more asymmetric than theirs [31]. But was Descartes an artist? We know that Descartes wrote about music (*Compendium musicae*, written in 1618 at the age of 22, and published in 1650 just after his death). He also performed autopsies when he was young, and may have later assisted the anatomical lessons such as Dr. Tulp’s dissection on the 16th January 1632, portrayed by Rembrandt [32].

Our investigations of Descartes’ endocast were guided on the basis of current information of cortical localization of cognitive functions: the generation and manipulation of 3D-spatial images and the mathematical representation of theories (mathematical ideation and visuospatial intelligence) would appear to be essential cognitive processes in the development of Descartes’ concepts in mathematics, physics, and philosophy. One may then hypothesise that, as in Einstein’s brain, the parietal lobes in particular might show anatomical differences between Descartes’ endocast and control modern humans brains.

Our inter-disciplinary examination clearly does not resolve the long-standing issue of the neuro-anatomical (i.e. organic rather than functional) substrate of exceptional intelligence. However, our findings confirm, as for other “historical brains”, that variation in specific cognitive functions may be associated with the structure of the brain regions mediating those functions. Further neuro-imaging and post-mortem studies will have to test and eventually confirm hypotheses relative to the

gross and microscopic anatomical substrate of different aspects of exceptional intelligence.

Acknowledgments

The authors wish to thank warmly Mélanie Mahieu (MNHN, Paris), Claire Nguyen and Stéphanie Charreaux (BIUS, Paris), and Bernadette Molitor (French Academy of Medicine, Paris) for all the bio-historical data provided during this interdisciplinary analyses. We are also indebted to Aurélie Fort and Véronique Laborde for their help during the analysis of the endocasts collection of the MNHN stored in the Musée de l’Homme (Paris).

References

- [1] R. Wagner, *Vorstudien zu diner wissenschaftlichen: Morphologie ind Physiologie des menschlichen Gehirns ale Seelenorgan*, Göttingen: Verlag des Dieterichschen Buchhandlung, 1860 & 1862.
- [2] E.A. Spitzka, A study of the brains of six eminent scientists and scholars belonging to the American Anthropometric Society. Together with a description of the skull of Professor E.D. Cope, *Trans. Am. Philos. Soc.* 21 (1907) 175–308.
- [3] H.H. Donaldson, M.M. Canavan, A study of the brains of three scholars, *J. Comp. Neurol.* 46 (1928) 1–95.
- [4] A. Balzeau, D. Grimaud-Hervé, T. Jacob, Internal cranial features of the Mojokerto child fossil (East Java, Indonesia), *J. Hum. Evol.* 48 (2005) 535–553.
- [5] G. Bräuer, C. Groden, F. Gröning, et al., Virtual study of the endocranial morphology of the matrix-filled cranium from Eliye Springs, Kenya, *Anat. Rec. A* 276A (2004) 113–133.
- [6] E. Bruner, G. Manzi, CT-based description and phyletic evaluation of the archaic human calvarium from Ceprano, Italy, *Anat. Rec. A* 285A (2005) 643–658.
- [7] S.F. Witelson, D.L. Kigar, T. Herve, The exceptional brain of Albert Einstein, *Lancet* 353 (1999) 2149–2153.
- [8] R. Shorto, *Descartes’ Bones. A Skeletal History of the Conflict Between Faith and Reason*, Doubleday, NY, 2008.
- [9] F. Spoor, N. Jeffery, F. Zonneveld, Using diagnostic radiology in human evolutionary studies, *J. Anat.* 197 (2000) 61–76.
- [10] P. Charlier, P. Froesch, N. Benmoussa, A. Froment, R. Shorto, I. Huynh-Charlier, Did René Descartes have a giant ethmoidal sinus osteoma? *Lancet* 384 (9951) (2014) 1348.
- [11] P. Charlier, P. Froesch, A. Balzeau, I. Huynh-Charlier, 3-Dimensional brain surface reconstruction from dried skull: interest for retrospective diagnosis in forensic anthropology, *Am. J. Forensic Med. Pathol.* 35 (4) (2014) 283–284.
- [12] D. Grimaud-Hervé, *L’Évolution de l’Encéphale chez Homo erectus et Homo sapiens: Exemples de l’Asie et de l’Europe*, Cahiers de Paléoanthropologie, CNRS, Paris, 1997.
- [13] O. Hammer, D.A.T. Harper, P.D. Ryan, *PAST: Palaeontological Statistics software package for education and data analysis*, *Palaeontol. Electron.* 4 (1) (2001) (9 p).
- [14] A. Balzeau, E. Gilissen, D. Grimaud-Hervé, Shared pattern of endocranial shape asymmetries among great apes, anatomically modern humans, and fossil hominins, *PLoS One* 7 (2012) e29581.
- [15] A. Balzeau, E. Gilissen, Holloway, S. Prima, D. Grimaud-Hervé, Variations in size, shape and asymmetries of the 3rd frontal convolution in hominids, paleoneurological implications about hominin evolution and language appearance, *J. Hum. Evol.* 76 (2014) 116–128.
- [16] R.L. Holloway, M.C. De La Coste-Lareymondie, Brain endocast asymmetry in pongids and hominids: some preliminary findings on the paleontology of cerebral dominance, *Am. J. Phys. Anthropol.* 58 (1982) 101–110.
- [17] D. Grimaud-Hervé, D. Lordkipanidze, The fossil hominid’s brain of Dmanisi: D 2280 and D 2282, in: M.S. Yuan, D.C. Broadfield (Eds.), *The Human Brain Evolving: A Symposium in Honor of Professor Ralph L. Holloway*, Indiana University, Bloomington 2010, pp. 60–82.
- [18] A. Balzeau, D. Grimaud-Hervé, R.L. Holloway, F. Détroit, B. Combès, S. Prima, First description of the Cro-Magnon 1 endocast and study of brain variation an evolution in anatomically modern *Homo sapiens*, *Bull. Mém. Soc. Anthropol. Paris* 25 (2013) 1–18.
- [19] A. Balzeau, P. Charlier, What do cranial bones of LB1 tell us about *Homo floresiensis*? *J. Hum. Evol.* 93 (2016) 12–24.
- [20] S.J. Gould, *The Mismeasure of Man*, WW Norton, New York, 1981.
- [21] M.M. Mesulam, *Principles of Behavioral and Cognitive Neurology*, Oxford University Press, New York, 2000.
- [22] D. Falk, New information about Albert Einstein’s brain, *Front. Evol. Neurosci.* 1 (3) (2009) 1–6.
- [23] F.E. Lepore, *Dissecting Genius: Einstein’s Brain and the Search for the Neural Basis of Intellect*, vol. 3, Dana Press, New York, 2001 11–26.
- [24] T. Hines, *Neuromythology of Einstein’s Brain*, *Brain Cogn.* 88 (2014) 21–25.
- [25] K. Amunts, A. Schleicher, K. Zilles, Outstanding language competence and cytoarchitecture in Broca’s speech region, *Brain Lang.* 89 (2004) 346–353.
- [26] G. Schlaug, L. Jancke, Y. Huang, H. Steinmetz, In vivo evidence of structural brain asymmetry in musicians, *Science* 267 (1995) 699–701.
- [27] G. Schlaug, The brain of musicians. A model for functional and structural adaptation, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 930 (2001) 281–299.

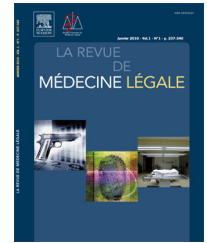
- [28] M. Bangert, G. Schlaug, Specialization of the specialized in features of external human brain morphology, *Eur. J. Neurosci.* 24 (2006) 1832–1834.
- [29] K. Amunts, G. Schlaug, L. Jancke, et al., Motor cortex and hand motor skills: structural compliance in the human brain, *Hum. Brain Mapp.* 5 (1997) 206–215.
- [30] L. Jancke, G. Schlaug, H. Steinmetz, Hand skill asymmetry in professional musicians, *Brain Cogn.* 34 (1997) 424–432.
- [31] K. Amunts, A. Schleicher, K. Zilles, Outstanding language competence and cytoarchitecture in Broca's speech region, *Brain Lang.* 89 (2004) 346–353.
- [32] J. Glazenburg, Rembrandt's anatomy of Dr Nicolaas Tulp, *Arch. Chir. Neerl.* 29 (2) (1977) 83–91.

CHARLIER P., CHAMPAGNAT J., BRUN L., AUGIAS A., LAQUAY L., HERVÉ C.
Human remains exhibition and ethics principles : A French medical experience and
evaluation. *La revue de la médecine légale* 2014 ; 5 : 140-147.



Available online at
ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com



ORIGINAL ARTICLE

Human remains exhibition and ethics principles: A French medical experience and evaluation



Exposition de restes humains et principes éthiques : expérience et évaluation médicale française

P. Charlier^{a,*}, J. Champagnat^a, L. Brun^{a,c},
A. Augias^a, L. Laquay^a, C. Hervé^b

^a Section of medical and forensic anthropology, UFR of health sciences, UVSQ, AP–HP, 2, avenue de la Source-de-la-Bière, 78180 Montigny-Le-Bretonneux, France

^b Department of medical ethics, faculty of medicine Paris 5, 75005 Paris, France

^c Department of pathology, university hospital, Parakou, Benin

Available online 20 November 2014

KEYWORDS

Anthropology;
Medical anatomy;
Medical education;
Body;
Death;
Cadaver

Summary Exhibition of human remains or fragments, recent and ancient, is current in anatomical, ethnographical and anthropological museums or structures. In 2011, was held in a village of Dordogne (center of France) an exhibition of around 120 mummified remains from Sicily (Italy), of historical origin, associated with a complete medical examination. In order to evaluate the respect of ethics principle relative to this large presentation of cadavers, and considering the recent problems caused in France and other European countries by the exhibition “Our Body/Body worlds”, a list of questions was given to visitors dealing with their sentiment facing this context. We present here the results of this evaluation, and compare it with reactions facing the “Our body/Body worlds” exhibition. Important differences existed both on the respect of ethics principles, and the scientific context of the presentation. This research confirms that the exhibition of human tissues, organs or cadavers raises considerable ethical debate about treating human remains in this way, even in a biomedical context, an issue of particular relevance to anatomists, physicians, and anthropologists.

© 2014 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

* Corresponding author.

E-mail address: philippe.charlier@uvsq.fr (P. Charlier).

MOTS CLÉS

Anthropologie ;
Anatomie médicale ;
Éducation médicale ;
Corps ;
Mort ;
Cadavre

Résumé L'exposition de restes humains complets ou fragmentaires, anciens ou récents, est fréquente en contexte anatomique, ethnographique, anthropologique et médical. En 2011, s'est tenue dans un village de Dordogne (centre de la France) une exposition d'environ 120 restes momifiés venant de Sicile (Italie), d'origine historique, associée à un examen médical complet. Dans le but d'évaluer le respect des principes éthiques relative à cette présentation massive de corps morts, et compte tenu des problèmes récemment survenus en France et dans d'autres pays au décours de l'exposition « Our body/Body worlds », un questionnaire a été distribué aux visiteurs aux fins de cerner leur sentiment et leur ressenti. On présente ici les résultats de cette évaluation et on compare ceux-ci à ceux de l'exposition « Our body/Body worlds ». D'importantes différences existent autant dans le respect des principes éthiques, que dans le contexte scientifique de ces expositions. Cet article confirme qu'une présentation de tissus humains, d'organes ou de cadavres suscite un réel débat éthique, même dans un contexte bio-médical, au sein duquel anatomistes, médecins – a fortiori légistes – et anthropologistes prennent légitimement part.

© 2014 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Introduction

How to expose the body? Exhibition of human remains or fragments, recent and ancient, is current in archaeological, ethnographical and anatomical museum or structures [1,2]. Human bodies are already legally displayed all around the world: thousands of 15th to 20th century. mummies in Italy [3–5], Egyptian mummies in many archaeological museums, anatomical preparations (including organs, hands, skulls, heads, isolated bones and whole skeletons, etc.) in medical and/or anthropological institutions. In 2011, was held in a village of Dordogne (center of France) an exhibition of around 120 mummified remains from Sicily (Italy), of archaeological origin. In order to evaluate the respect of ethics principle relative to this large presentation of cadavers, and considering the recent problems caused in France and other European countries by the exhibition "Our Body/Body worlds/Körperwelten", a list of question was given to visitors dealing with their sentiment facing this context. Indeed, the exhibition of human tissues, organs or cadavers raises considerable ethical debate about treating human remains in this way, an issue of particular relevance to anatomists and physicians.

Material and methods

Accompanying the biomedical 4th International Congress of Pathography, an exhibition was held in Saint-Jean-de-Côle (Dordogne, center of France) between the 13th of May and the 15th of August 2011, entitled "Mirror of time. The mummies from Randazzo (Sicily, 17th–19th century. AD)". This exhibition was organized by one of us (P. Charlier) and *dottoressa* Luisa Lo Gerfo, an Italian anthropologist, at the origin of the preliminary examination of the remains. Around 120 mummies discovered in 2008 during the restoration of an old church on the west slope of the volcano Etna were displayed with full archaeological and scientific explanations, under the auspices of the French Ministry of Culture [6].

A one-page questionnaire was given to all visitors (attendant to the congress, and further visitors), focused on the eventual negative impact of such an exhibition of human remains. Written in French language, an English translation is given in [Appendix A](#).

Results

A total of 243 questionnaires were recuperated at the end of the visit, including 19 from the congress' audience. Detailed results follow.

General population

A total of 224 questionnaires were completed (on a total of 1327 expected, i.e. 17%). Two hundred and twelve were answered by adults (83 males, 124 females, 6 missing) aged between 16 and 89-years-old (with a mean of 51.7 yrs.) and 12 by children (5 boys, 6 girls, 1 missing) aged between 7 and 14-year-old (with a mean of 11.3 years). A total of 25 adults were related to medical/paramedical activities, 7 to archaeology/history jobs and 1 to both.

Among the adults interrogated, 5.2% were shocked by the exhibition ($n = 11$), mainly because of the "crude aspect of skulls", the "idea of being far away from the primitive location of these human remains", "the strange sensation of facing death (mirror effect)", "provocation of a kind of malaise", "emotion, especially with the baby mummy".

A total of 29% have already heard about the exhibition "Our body" ($n = 61$), 49% of them with negative criticisms ($n = 30$), mainly represented by "a pseudo-artistic presentation of recent cadavers", "a deviant exhibition", "incomplete data about the origin of the bodies", "absence of individual/patient consent prior to exhibition", "lack of human respect and dignity", "equivocal and non-natural posture", "kind of voyeurism" "gore and alluring exhibition".

Within the sample of individuals who heard about the exhibition "Our body", 57% of them considered the Randazzo exhibition as different ($n = 35$), mainly because "less shocking, more pedagogical", "realistic without any voyeurism or provocation", "ethical sensibility", "high scientific background", "old/archaeological artifacts", "historical, not commercial goal of the exhibition", "originally mummified bodies, not transformed especially for the exhibition", "mainly heads and skulls, not full conserved bodies".

Indeed, the original context of this human sample was clearly presented for 94% of them ($n = 200$).

When asking which final destination would appear the best for this anthropological sample, visitors said (multiple answers were possible): museum for 50% ($n = 106$), institute of anatomy for 29% ($n = 62$), and original church (i.e. place of discovery) for 42% ($n = 89$).

Among the children interrogated, 25% were shocked by the exhibition ($n = 3$), because it was “disturbing” and the mummies were not “pretty”. The exhibition “Our body” and associated negative criticisms were known for one child who considered the Randazzo exhibition “more pedagogical”. Indeed, the original context of this human sample was clearly presented for 91.7% of them ($n = 11$). When asking which final destination would appear the best for this anthropological sample, children said (multiple answers were possible): museum for 33% ($n = 4$), institute of anatomy for 75% ($n = 9$), original church (i.e. place of discovery) for 75% ($n = 9$) and one in a museum but near the original church.

A total of 48 (21%) spontaneous marginal declarations testified of positive feelings of the visitors toward the exhibition (for example: “exceptional presentation”, “unique occasion of discovering Sicilian mummies”, “fascinating”, “excellent opportunity of understanding paleopathology”, etc.).

Congress’ audience

A total of 19 individuals answered the questionnaire (on a total of 73 attendants, i.e. 26%) during the two-day congress: 8 females, 11 males, between 24 and 70-years-old (average age 44.6 years). A total of 6 were related to medical/paramedical activities, 6 to archaeology/history jobs and 2 to both. Due to the limited importance of the group, results are only indicative.

In this group, no one was shocked by the exhibition.

A total of 79% had already heard about the exhibition “Our body” ($n = 15$), 80% of them with negative criticisms ($n = 12$), mainly represented by “a pseudo-artistic presentation of recent cadavers”, “a deviant and indecent exhibition”, “incomplete data about the origin of the bodies”, “lack of human respect and dignity”, “equivocal and non-natural posture”, “kind of voyeurism”.

Within the sample of individuals who heard about the exhibition “Our body”, 93% of them considered the Randazzo exhibition as different ($n = 14$), mainly because “less choking, more pedagogical and temperate”, “high scientific background”, “historical/archaeological, not commercial goal of the exhibition”, “originally mummified bodies, not transformed especially for the exhibition”.

Indeed, the original context of this human sample was clearly presented for 89.5% of them ($n = 17$).

When asking which final destination would appear the best for this anthropological sample, visitors said (multiple answers were possible): museum for 16% ($n = 3$), and original church (i.e. place of discovery) for 84% ($n = 16$).

A total of 6 (31%) spontaneous marginal declarations testified of positive feelings of the visitors toward the exhibition (for example: “extraordinary complement for the congress”, “useful exhibition”, “a new generation of human remains exhibition with full morality”, “fascinating retrospective diagnoses”, “important for the knowledge of human mummification”, etc.).

Discussion

Data comparison

Repartition of males and females was not statistically different between the adult general population and congress’ attendance groups (Chi-square test, $P = 0.13$). Related to unbalanced numbers of observations per group and the small number in congress’ attendance group, age was categorized in 3 classes using the tertiles of its distribution (16–46, 47–64 and 65–90 years). Repartition of age classes was not statistically different between the two groups (36%, 40% and 24% versus 53%, 42%, 5%, respectively; Fisher exact test, $P = 0.14$). Logically, as this last was accustomed to archaeological and/or anthropological studies, their reactions toward the exhibition were slightly different from the general population. They also have a long experience with ancient human remains, with subsequent reflections regarding their kind of conservation and final destination. No shocking sensation facing the human remains, i.e. a current object of research for them (0% versus 5.2% Fisher exact test, $P = 0.60$); important knowledge about the Gunther von Hagen’s exhibition (79% versus 29%, Fisher exact test, $P < 0.0001$), and negative criticism given to this last (80% versus 49%; Fisher exact test, $P = 0.047$); better differentiation between both exhibition (93% versus 57%; Fisher exact test, $P = 0.01$). Lastly, propositions for the final destination appeared more “respectful” of the original localization and presentation of the human remains (84% versus 42% Fisher exact test, $P = 0.003$).

Juridical context of human bodies’ exhibition in France

In France, the highly publicized Gunther von Hagens’ exhibition “Our body, à corps ouvert” (“Körperwelten”, internationally known as “Body Worlds”, and initiated in 1998) has been the object of a strong juridical framing never seen before in the French law [7]. This exhibition, organized by the society *Encore events*, followed, according to its organizers, both scientific and pedagogical aims: “democratizing anatomy”... with little regard for the conventions of academia [8]. Almost a hundred of human cadavers preserved through plastination were displayed [9,10], all accompanied by the signature of the artist (i.e. Gunther von Hagens) and the date of creation (as a classical painting or a sculpture).

Concerning the exhibition *Our body*, the National Consultative Ethical Committee explained that, even if anonymous, such exhibited bodies still remain individuals; such exhibition, i.e. reification, was a kind of identity and/or dignity attack [11]. The Tribunal de Grande Instance in Paris expressed the official interdiction of the exhibition on the 21st of April 2009, stating that the presented cadavers were not scientific support and/or art items; indeed, body sections were not scientifically legitimate, colorations were arbitrary, and positions were sometimes unrealistic (N° 09/53100). The Cour d’Appel in Paris confirmed the first judgment on the 30th of April 2009 with other arguments, especially the absence of any verification of the legal origin of all cadavers prior to exhibition (N° 09/09315). The

magistrates gave a third opinion throughout the judgment of the Cour de Cassation on the 16th of September 2010, as an interdiction of any commercial exhibition of human cadavers.

The Tribunal de Grande Instance in Paris, seized by two associations (*Solidarité Chine* and *Ensemble contre la peine de mort*, i.e. “China solidarity” and “Together against death sentences”), gave an immediate decision on the 21st of April 2009 forbidding this exhibition; a decision confirmed by the Cour d’Appel in Paris on the 30th of April 2009. These legal decisions were justified by a juridical framing specifically dedicated to cadavers. The Cour d’Appel confirmed that the final destination of the cadavers and their anatomical parts is inhumation, or cremation, or deposition in scientific collections (with a general interest mission and whose activity is controlled by the law). The character of moral individual of private law following commercial goal of the society *Encore events* prevented it from disposing of cadavers, for 3 reasons:

- the commercial goal of the exhibition implies a commercialization of such bodies;
- the human body cannot be the object of any commerce;
- the private detention of cadavers is illicit.

More, the pedagogical aim of the exhibition cannot make up for the manifest illicit character of this cadaver detention, for a reason of public order. Last, it has been judged that the scientific aim of the exhibition was contestable.

The law of the 19th December 2008, relative to the funeral legislation, extended to the cadaver the respect previously dedicated to the (living) human body by the Civil Code. Indeed, the commercialization of a cadaver through their exhibition is in clear opposition with the respect one may pay for. More, no consent has been previously given by living individuals (and this consent would reasonably have been illicit, due to the commercial character of the event). Last, the article 16-2 of the Civil Code authorizes the judge to an interdiction by every possible means of any illicit attack of the human body, including the cadaver. This principle of inviolability of the human body is written in the article 16-1 of the Civil Code mentioning the following laws: everyone has a right to the respect of its body; the human body is inviolable; the human body, its elements and its anatomical components cannot be the object of any patrimonial law.

More, the article 16-3 of the Civil Code specifies that no one can attack the integrity of the human body, excepted in cases of medical necessities for the individual, or for the exceptional therapeutic interest of others. Exceptions for the preliminary consent exist for the justice (forensic autopsy), the scientific research (medical and/or hospital autopsy) and public health (organ transplantation). This juridical protection of the cadaver’s integrity rests on a licit alteration of the cadaver (medical context) and an illicit one. Any attack of the cadaver’s integrity is sentenced by one year of detention, and a fine of 15 000 euros (article 225-17 of the Penal Code); the same for any grave profanation. The fact of harboring or dissimulating a cadaver, particularly in a context of violent death and/or homicide, is punishable by two years of detention, and a fine of 30 000 euros (article 434-7 of the Penal Code).

The last juridical text on which the justice decision was based on concerning the exhibition “Our body” was the right for the respect of each individual’s dignity, including after death (article L. 1110-2 of the Public Health Code): the patient has the right to the respect of its dignity, and this is one of its most fundamental rights. The Medical Deontology Code (article 2) states that the respect due to the individual continues after death.

International reactions concerning the recent Gunther von Hagen’s exhibition

Many of the previous points given by the French lawyer have been discussed internationally, despite a global success with audiences worldwide: Europe, Far East, and the USA [10]. As stated by Moore and Brown [12], “the anatomical quest to understand our physical interior has long been in tension both with aesthetic ideals and religious sensitivities regarding the metaphysical significance of the human body”.

In Germany, the general population agreed with a lack of data concerning the donor’s self-determination and consideration for the family and acquaintances [13]. Was also considered as problematic, the unusual positioning of the figurative plastinates. Lastly, the organization in itself of a public exhibition of organ remains was debated, with the emergence of a key-problem: is the final destination of a dead body a burial or not (i.e. a grave or a museum, i.e. non usefulness or education) [14]?

What about dignity? Some pointed the fact that bodies were playfully posed in the exhibition, some aspects violating human dignity, with a strong contradiction with the educative principle given by the organizers [15–18]. It appeared that the educational use of cadavers may be compatible with such exhibition only if:

- the utility of such use is great; there are no other ways of achieving these educational ends;
- every effort is made to honor the dignity of the donors [17].

Obviously, Gunther von Hagens’ exhibition didn’t reach any of any of these three points.

In order to analyze how visitors see and interpret the exhibition of such aestheticised dead human bodies, several studies were previously carried out:

- some examined messages people left in the exhibition’s comment-books to reveal how people saw the bodies [13,19];
- some analyzed video-recordings of visitors looking at the plastinated bodies at the showing of “Body Worlds” in London (UK) in 2002–2003 [19], and in Munich in 2003 [20];
- some analyzed questionnaires handed to visitors at the exhibition in Tokyo in 1995 [21].

Free comments from physicians and psychologists were also given after the exhibition at the Milwaukee Public Museum in 2007 [22].

Results clearly show that such an exhibition provokes an “elementary scientific gaze in which obvious interest is shown in anatomical details. But because the exhibits are dry, odorless and anonymous, this does not generate the defense of

emotional detachment; indeed, among several emotional responses, are fascination and, for some, awe” [19].

Considering German visitors in Munich, about 82% visited the exposition to learn more about anatomic structure and function of their own bodies (86.4% considered this accomplished); almost 50% of the visitors confessed having felt disturbed; about 74.5% named curiosity as their motive for visiting the show; at least 40.6% were led to reflect on their own mortality; lastly, about 94% of the visitors pleaded against prohibiting the exhibition [20]. Video-recordings showed that visitors seem to “anatomize the exhibits, and consider them in the light of their knowledge and experience of real (living) human bodies, such as those of other people and their own” [19].

Considering Japanese visitors in Tokyo, a large majority (over 90% of the visitors) welcomed the exhibition and were concerned about the aim of the exhibition and hoped explanations of exhibited specimens, insisting on the necessity of paying attention to the privacy of the cadavers and their families; the most impressive specimens were whole body silicone specimens and a series of slices of a whole body for both medical and non-medical visitors; medical visitors evaluated specimens as of high importance and interest for medical education in order to understand three dimensional structures; on the contrary, non-medical visitors were astonished to encounter the whole body specimens, not the dissected ones; some anatomists strongly stand against such public open exhibitions of anatomical specimens because the plastinated specimens are represented quite differently from ordinary formaldehyde fixed specimens, and expected that non-medical people must get upset about the specimens [21].

Other kinds of human remains presentations

The presentation of human remains and how it is received as an exhibit by a viewing public varies from one country to the next. More, there are many forms of presentation. Gunther von Hagen’s exhibition is just one example, albeit an extreme version of exhibition, but not in any way representative of how human remains are usually exhibited.

First of all, von Hagen is at the origin of some followers, such as “Bodies: the exhibition”, an exhibition showcasing preserved human bodies dissected to display bodily systems, that opened in Tampa (Florida) in 2005; similar to, though not affiliated with, the exhibition “Body Worlds” (which opened in 1995), the show is operated by Premier Exhibitions which presents and promotes similar exhibits including “Bodies Revealed”, and “Our Body: The Universe Within”, and other entertainment exhibits.

Another worldwide exhibition entitled “Mummies of the world” edited a “Mummy ethics” in order to prevent any form of criticism relative to the presentation of these hundreds of human remains. The origin of the human remains is clearly highlighted, avoiding the possibility of any recent illegal excavations or selling (“all of the mummies and artifacts [...] have been held in established and well-respected European museum and university collections for a century or more and have a traceable provenance”). In order to pass through the actual interdiction of human remains selling, they precise that “they were acquired at a time when collection of archaeological objects and human specimens were a common

practice”. The aim of the exhibition is clearly given, far away from any financial interest according to the organizers: “our goal in our exhibit presentation is to advance the relevance of anthropology in ancient global cultures, and to provide visitors with an educational and scientific window into the cultures, history and lives of the people who came before us”. According to ethical guidelines given by museum partners, all the remains are treated with respect and dignity, “taken into account the interests and beliefs of the social, ethical and religious groups from which the human remains originate”. The Ethics Advisory Council of the California Science Center (at the origin of the exhibition in 2009), represented by Re. Cecil L., Chip Murray (Center for Religious and Civic Culture, University of Southern California) and David C. Blake, Ph.D., J.D. (chief compliance and privacy officer, Cedars-Sinai Medical Center, Los Angeles, California), acknowledged the ethical background of such an exhibition that presents human remains “without desecrating the laws governing respect for human dignity and life”.

Other institutions held temporary or permanent exhibition of human remains (anatomical segments, full bodies, mummies or skeletons): the Royal College of Surgeons, London (with the exhibition, for example, of the remains of Charles Byrne, whose body has been proposed by some for funerals as the origin of their deposit in this institution seems to be illegal) [23]; archaeological museums such as the Egyptian Museum in Cairo (with hundreds of human mummies displayed to the public, some only covered by a thin linen textile on the pudenda) or the British Museum, London (with the naked mummy of Ginger, a pre-dynastic Egyptian individual); anthropological institutions such as the Smithsonian Institute, Washington DC or the National Museum of Natural History, Paris, each one with more than 20 000 human samples displayed in public exhibition and conserved for scientific researches; the Italian and Sicilian catacombs (and especially the Palermo one, with the embalmed body of a baby, Rosalia Lombardo, whose sister asked recently for the inhumation according to a familial will). There are many ways to expose human bodies, some isolated (comparable to a “case report”), others in a kind of accumulation (a remnant of the 18th–19th century mode of encyclopedic science).

In any cases, we think that everything cannot be showed to non-scientific visitors: human bodies need to be covered, not naked. Dignity has to be the rule, even for skeletons that need to be cured as full well-conserved bodies (no fragmentation, no alteration due to disinterest, etc.). Such remains have to get a “second life” in order to justify their conservation out of a grave, out of any ritual place. If inaccessible for researchers, if non-useful, if forgotten, their conservation has no sense. This is the meaning of the Leyden declaration (2012) “on human anatomy/anatomical collections, concerning the conservation and preservation of anatomical and pathological collections »: it is clearly expressed that « separated from their archives, these collections can lose identity, sometimes irrevocably ».

Specificities and adaptations for the Randazzo exhibition

So, how is it possible to expose now in an Occidental country, more than 100 human mummified bodies the most ethically

possible? All previous ethics developments relative to such human bodies exhibitions [22,24,25], obliged us to make the Randazzo exhibition definitely different from "Our body". Indeed, the "material" was an archaeological one, dating between the 17th to the 19th century A.D. (instead of an actual one); more, the original disposition of these bodies was a presentation in a church, so the "exhibition" character of such bodies was not unnatural, but a kind of continuation of the initial one. The organization of the exhibition did not go against the willing of these individuals, as these previously living individuals especially asked for such a post-mortem exhibition, and paid the Capuchins for the whole embalming process and disposition of their bodies in the cathedral. The aim of such a practice was a kind of memento mori (rich citizens serving as a post-mortem example for living ones, indicating that on Earth life is a very short moment of our existence, and must be the most perfect as possible, in order to get easily eternal place in Paradise).

More, the presentation of the bodies from Randazzo was everything but rude, accompanied by high-quality scientific (medical) and historical explanations, associated with mummified samples from other civilizations (in order to explain such a natural and artificial methodology of bodies' transformation and long-term conservation). Almost 15 international specialists wrote a catalogue published by a renowned university and academic editor (De Boccard, Paris).

A discrete religious ceremony was organized (a short benediction of the dead) in Randazzo prior to the travel to France, and again in Saint-Jean-de-Côle, prior to the opening of the exhibition. The aim of such rituals was:

- to get a sincere and private guarantee from religious authorities (Christian Catholics, in the present way) for such a presentation;
- to cure of the dead and install a kind of peaceful context for the presented cadavers, whatever the personal views of the exhibition organizers are.

Lastly, the exhibition was free for the visitors. The organizers followed no commercial goal, all costs being paid by public cultural organizations. It has to be said that a majority of museums or institutions with human bodies exhibition are not free (the Dupuytren museum in Paris, the Fragonard collection in Maisons-Alfort, the Delmas-Rouvière-Orfila collection in Paris, even the Louvre Museum!); but one cannot have any doubts about their educative and/or historical character rather than a simple speculative or commercial one.

As a consequence of all of this, the exhibition was inaugurated under the patronage of the French Ministry of Culture, considering its important educational interest,

and full respect of moral and ethics principles. Several cities asked for hosting this exhibition in the next few months and years in France (Saint-Cyr-sur-Loire; Maison du Woesthoek in Esquelbecq; Museum of Natural History in Bourges; Faculty of Medicine Simone-Veil in Guyancourt Paris West University; Alfred-Danicourt Museum in Peronne) and neighbored countries. Organizers will have to keep the same high-level of morality and respect of ethics principle inspired by biomedical research and previous errors from the past exhibitions.

Conclusion

The presentation of human remains at exhibits is a very important topic for those involved with collections or working at museums [26]. We, the authors, deeply consider human remains not only as pure desecrated objects or inert entities, but "something more", notably because they have been animated and enlightened by a soul, out of any religious beliefs. According to this principle, we can make the following suggestions regarding our opinion on how human remains should be exhibited: always accompanied by serious and validated scientific explanations; integration of religious aspects prior to and during all the exhibition (including the realization of rituals such as a benediction or purification process); free entrance for the exhibition (or at least, non-profit organization of the exhibition); no sensational or immoral presentation of the human remains; highest conditions of conservation; restitution to the original place of discovery or institution; accessibility to researchers in the respect of human body integrity and dignity.

If all these criteria are respected, one would consider the presentation of human remains as possible and in accordance with the highest ethics principle.

Disclosure of interest

(PC) gave a conference at the occasion of the exhibition *Der Zyclus des Lebens*.

Acknowledgments

To the tourist office of Saint-Jean-de-Côle (Dordogne) who distributed the questionnaire and was of great help in the organization process; to Laurence Watier (Inserm & AP-HP) for her help in the statistical analyses; to Romain Juston (École Normale Supérieure, Paris) for his review of the manuscript and critical input; to Ana-Maria Lazar (French National Library, Paris) for the English proofreading.

Appendix A. Questionnaire distributed to all visitors (originally in French language, here translated in English)

Questions relative to the exhibition ‘‘Mirror of Time. The mummies from Randazzo’’ Saint-Jean-de-Côle (thank you for circling the answer corresponding to your choice).

Have you been shocked by this exhibition? If ‘‘Yes’’, why? <input type="text"/>	Yes	No
Have you ever heard about the exhibition ‘‘Our body’’? Do you know any negative remarks about this last? If ‘‘Yes’’, which ones do you consider as legitimate? <input type="text"/>	Yes	No
Do you consider the exhibition you just saw as different by its presentation and/or aim? If ‘‘Yes’’, for what reasons? <input type="text"/>	Yes	No
Is the context of discovery, of origin, of study of these mummies clearly presented? Which final destination do you consider as the most logical for these remains at the end of the exhibition? Mass grave Museum Institute of anatomy Church of origin Other (explain) <input type="text"/>	Yes	No
Which ameliorations would you propose for the exhibition you just visited? <input type="text"/>		
Are-you? How old are you? <input type="text"/>	A female	A male
Are you?	Medical/para-medical	Archaeologist/historian

References

- [1] Davidson GW. Human remains: issues confronting museums and the scholarly disciplines. *Caduceus* 1991;7(1):18–33.
- [2] Jones DG, Whitaker MI. Engaging with plastination and the Body Worlds phenomenon. A cultural and intellectual challenge for anatomists. *Clin Anat* 2009;22(6):770–6.
- [3] Panzer S, Zink AR, Piombino-Mascali D. Radiologic evidence of anthropogenic mummification in the Capuchin catacombs of Palermo, Sicily. *Radiographics* 2010;30(4):1123–32.
- [4] Panzer S, Carli S, Zink AR, Piombino-Mascali D. The anatomical collection of Giovan Battista Rini (1795–1856): a paleoradiological investigation. *Clin Anat* 2012;25(3):299–307.
- [5] Piombino-Mascali D, Aufderheide AC, Johnson-Williams M, Zink AR. The Salafia method rediscovered. *Virchows Arch* 2009;454(3): 355–7.
- [6] Charlier P, Lo Gerfo L. *Le miroir du temps. Les momies de Randazzo (Sicile, 17^e–18^e siècle)*. Paris: De Boccard; 2011.
- [7] Claire G. L’exposition anatomique « Our Body » : une atteinte à la dignité du cadavre ? *Med Droit* 2011;6(108):136–42.
- [8] Jones DG. Re-inventing anatomy: the impact of plastination on how we see the human body. *Clin Anat* 2002;15(6): 436–440.
- [9] Steinke H, Spanel-Borowski K. Coloured plastinates. *Ann Anat* 2006;188(2):177–82.
- [10] Jones NL. A visual anthropological approach to the ‘‘edutainment’’ of Body Worlds. *Am J Bioethics* 2007;7(4):40–2.
- [11] Ameisen JC, Le Coz P. Avis n° 111 sur les problèmes éthiques posés par l’utilisation des cadavres à des fins de conservation ou d’exposition muséale. Paris: Comité consultatif national d’éthique pour les sciences de la vie et de la santé; 2010.
- [12] Moore CM, Brown CM. Experiencing Body World: voyeurism, education, or enlightenment? *J Med Humanities* 2007;28(4):231–54.
- [13] Preuss D. Body worlds. Looking back and looking ahead. *Ann Anat* 2008;190(1):23–32.
- [14] Nathan C. Ethical and legal aspects to death: the burial. *Med Law* 1989;8(5):445–54.
- [15] Bohannon J. Gunther von Hagens. Anatomy’s full Monty. *Science* 2003;301(5637):1172–2117.
- [16] Burns L. Gunther von Hagen’s Body worlds. Selling beautiful education. *Am J Bioethics* 2007;7(4):12–23.
- [17] Sedivy R. Man on display. Corpses and organs in public. *Wien Med Wochenschr* 2007;157(9–10):219–22.
- [18] Walter T. Body Worlds: clinical detachment and anatomical awe. *Soc Health Illness* 2004;26(4):464–88.
- [19] Von Lehn D. The body as interactive display. Examining bodies in a public exhibition. *Soc Health Illness* 2006;28(2):223–51.

- [20] Leiberich P, Loew T, Tritt K. Body Worlds exhibition. Visitor attitudes and emotions. *Ann Anat* 2006;188(6):567–73.
- [21] Masuda Y, Yohro T. Is it allowed to have a public open exhibition of human plastinated specimens in Japan? *Kaibogaku Zasshi* 1997;72(1):61–71.
- [22] Bedinghaus JM, Foldy SL. What a piece of work is man: the Body Worlds exhibit at the Milwaukee Public Museum. *Wisconsin Med J* 2008;107(2):59–61.
- [23] Doyal L, Muinzer T. Should the skeleton of ‘‘The Irish giant’’ be buried at sea? *British Med J* 2011 [343p, d7597].
- [24] Eid N, Otsuki Y. The plastinate Lessons from the mummy and Kentai. *Clin Anat* 2009;22:941.
- [25] Scarini P. Autumn fantasy. Anatomy museum. Ethics. *Pathologica* 2002;94(3):148–51.
- [26] Tubbs RS, Loukas M. Hic locus est ubi mortui viveuntes docent. *Clin Anat* 2009;22 [942].

CHARLIER P., BENMOUSSA N., RENGOT F., AUGIAS A. Les collections anatomiques : bio-banque de l'histoire des maladies virales. *Virologie* 2017 ; 21(3) : 117-119.

Les collections anatomiques : bio-banque de l'histoire des maladies virales

Philippe Charlier^{1,2}

Nadia Benmoussa¹

Fanny Rengot¹

Anaïs Augias¹

¹ Équipe d'anthropologie médicale
et médico-légale (UVSQ
& EA4569 Paris-Descartes),
UFR des Sciences de la santé,
2 avenue de la Source de la Bièvre,
78180 Montigny-Le-Bretonneux,
France

² CASH & IPES,
403 boulevard de la République,
92000 Nanterre, France
<ph_charlier@yahoo.fr>

Il est une tradition probablement aussi ancienne que celle des universités de médecine : celle de collectionner, classer, conserver, exposer des pièces anatomiques et pathologiques utiles tant pour l'apprentissage de l'art médical que pour l'édification du grand public. En marge des autopsies et dissections anatomiques, des vidanges de fosses communes, d'interventions chirurgicales « héroïques », nos confrères du passé ont amassé, sur des dizaines de générations, toute une quantité de préparations anatomiques dont l'intérêt pour la recherche interdisciplinaire reste réel. Même si des universités françaises prennent la décision de vendre de tels ensembles scientifiques ou d'en suspendre temporairement l'accès, force est de constater que l'on n'accorde pas assez d'intérêt à ces squelettes, calcifications biologiques, organes fixés en formol ou alcool, lames histologiques, etc. [1].

Si l'on veut obtenir une vision exhaustive, sorte de cartographie sanitaire évolutive, on peut fonder sa méthodologie sur des moyens diagnostics divers : philologie (étude des textes : registres de décès, traités de médecine, dossiers médicaux, etc.), paléo-pathologie (étude médicale de restes humains anciens : squelettes, momies, préparations anatomiques, etc.) et icono-diagnostic (étude des représentations humaines : tableaux, sculptures, masques mortuaires, etc.). Publication après publication, cas rapporté après cas rapporté, il devient possible de reconstituer une sorte d'histoire naturelle des maladies, y compris leur co-évolution (pathocénose).

Qu'en est-il pour les viroses ? Un examen macroscopique ne permet généralement pas un tel diagnostic lorsqu'il s'agit d'ossements ou de momies (sauf à ce qu'une éruption pathognomonique soit encore décelable sur les téguments, comme par exemple cette variole sur la momie du pharaon Ramsès V, mort en 1145 av. J.-C.) [2, 3]. C'est alors la réalisation d'examen complémentaires (d'abord histologiques puis paléo-génétiques) qui permet de mettre en évidence la présence de virus (soit sous la forme d'une famille, soit sous la forme d'une identification précise). Si l'information est ponctuelle et confirme l'hypothèse portée sur des pièces « humides » comme un carcinome ORL à HPV 16 du XIX^e siècle, par exemple [4], l'étude d'une grande cohorte pourrait être plus informative : se pose en effet le problème de l'incidence et de la prévalence des agents infectieux viraux dans les populations anciennes. Les variations de fréquence des cas de maladie de Paget visibles sur les séries squelettiques historiques sont-elles indexées sur celle de la rougeole, avec des vagues successives en fonction de mouvements de population (migration ou conflits) ? L'ancienneté des hépatites B et C peut-elle être repoussée de plusieurs centaines d'années ? Qu'en est-il des momies pour lesquels des organes creux ont été préservés ? Ou, à défaut, des squelettes associés à des stercolithes donnant un accès comparable à l'étude du microbiome intestinal ? Une approche indirecte de reconstitution du microbiome consiste à étudier le virome ancien, et à identifier les bactéries cibles des bactériophages. Un article récent a caractérisé le microbiote intestinal de trois momies andines précolombiennes et a trouvé des séquences homologues sur le plan viral (bactériophages) [5] : des séquences correspondant aux familles *Siphoviridae*, *Myoviridae*, *Podoviridae* et *Microviridae* ont été identifiées.

Les hôtes bactériens putatifs prédits correspondaient principalement aux Firmicutes et Proteobacteria, comprenant des *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Vibrio*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* et *Yersinia*. Les catégories fonctionnelles prédites associées aux bactériophages ont montré une représentation des gènes de structure, de réplication, d'intégration et d'entrée puis de lyse. Une telle étude suggère que la momification naturelle de l'intestin humain résulte en la conservation de l'ADN du bactériophage, ce qui représente une opportunité d'élucider le phagéome ancien et d'émettre des hypothèses sur les mécanismes possibles de préservation.

Pour les corps enterrés ou condamnés par un long temps d'exposition ou d'interaction avec l'environnement, le principal écueil est celui de la contamination par des agents infectieux initialement extérieurs au cadavre. Comment différencier espèces telluriques et espèces anciennes ? Il importe de prélever et d'analyser au maximum des échantillons témoins à proximité et à distance des échantillons principaux (sur le site archéologique, évidemment, mais même dans un musée : poussière adjacente à la momie, recoins de la vitrine de présentation, etc.) pour vérifier la représentativité des résultats obtenus sur les éléments du corps.

L'ADN ancien (et son parèdre, plus fragile mais tout aussi informatif, l'ARN) n'est pas toujours extractible. L'importante quantité de publications en paléo-génétique ne rend pas compte de la grande difficulté de son extraction et de son analyse au décours... Les environnements particulièrement humides, aux pH extrêmes et/ou fortement exposés aux UV s'opposent généralement à sa conservation prolongée. Ainsi, le diagnostic de verrues plantaires porté sur les pieds de l'homme de Tollund (Danemark, IV^e-III^e s. av. J.-C.) n'a pas pu être confirmé par l'identification génétique du papillomavirus, pour des raisons environnementales [6]. Le mode de conservation à partir de paraffine ou de formol des pièces anatomiques est destructeur d'ADN et de récentes études visent à recouvrer ces données génétiques fragmentées [7].

Faut-il savoir à tout prix ? Autrement dit, faut-il prendre le risque de détruire une pièce anatomique pour y réaliser un prélèvement ? La connaissance passe-t-elle par une prise de risque. À la position du chercheur souhaitant absolument combler des lacunes sur le plan de l'évolution génomique d'agents infectieux, s'oppose celle du conservateur souhaitant garder *ad integrum*, sur l'espace de sa prise en charge, ladite pièce anatomique. Peut-on savoir sans échantillonner, c'est-à-dire sans altérer physiquement la pièce, et

sans rompre l'équilibre établi durant des années voire des siècles ?

Il faut considérer ces collections anatomiques comme des échantillons de temps (*time-capsules*) à la disposition – précautionneuse – des chercheurs actuels et futurs. Avec une utilisation qui doit être bien encadrée et une destruction/un échantillonnage particulièrement parcimonieux, sous l'autorité de comités scientifiques qui jugeront de l'intérêt de la recherche, mais aussi... du danger potentiel. Car il existe une véritable problématique de santé publique avec de tels échantillons : travailler sur des lames histologiques du XIX^e siècle partiellement décollées issues de patients atteints d'anthrax, de peste, de tuberculose ou même de variole n'est pas sans risque. Sur une échelle de temps bien plus grande que ces périodes historiques, les travaux de Jean-Michel Claverie sur les paléovirus du Pléistocène devenus accessibles à une identification morphologique et à une analyse génomique par la fonte du permafrost, montrent toute l'actualité de cette dangerosité potentielle [8, 9]. Le chercheur travaillant sur les agents infectieux du passé doit donc être particulièrement responsable : choisir son sujet d'étude, avec ses avantages et ses inconvénients, c'est-à-dire peser sans cesse le bien et le mal. Comme en philosophie.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Références

1. Charlier P, Charlier P, Hervé C. What new life for the Parisian (and European) anatomical and pathological collections? Struggle for medical education. *Clin Anat* 2017 ; 30 : 432-3.
2. Hopkins DR. *Princes and Peasants : Smallpox in History*. Chicago : University of Chicago Press, 1983.
3. Hopkins DR. Smallpox entombed. *Lancet* 1985 ; 1 : 175.
4. Benmoussa N, Charpentier C, Mariaggi AA, et al. HPV in squamous cell carcinoma of 19th century tonsils. *Lancet Oncol* 2016 ; 17 : e477-8.
5. Santiago-Rodriguez TM, et al. Natural mummification of the human gut preserves bacteriophage DNA. *FEMS Microbiology Letters* 2016 ; 363 : fnv219.
6. Charlier P, Nielsen O, Lowenstein EJ. Plantar warts on Tollund man's feet (Denmark, 4th c. BC) : limits of retrospective dermatological diagnosis. *Clin Exp Dermatol* 2017. Sous presse.
7. Patel PG, Selvarajah S, Boursalie S, et al. Preparation of formalin-fixed paraffin-embedded tissue cores for both RNA and DNA extraction. *J Vis Exp* 2016 ; 114 : e54299.
8. Legendre M, Lartigue A, Bertaux L, et al. In-depth study of Mollivirus sibericum, a new 30,000-y-old giant virus infecting *Acanthamoeba*. *PNAS* 2015 ; 112 : E5327-35.
9. Charlier P, Brun L. Anthropologie physique et risque infectieux ? *Feuillets de biologie* 2014 ; 319 : 1-3.

7

PARTIE II.
Bio-archéologie : se préparer à explorer
le microbiome de nos ancêtres

L

Les microorganismes et leur hôte humain ont un rapport symbiotique où chacun a un rôle à jouer ; l'Homme doit fournir à son organisme les nutriments nécessaires et les bactéries œuvrent à la protection immunitaire, la création de vitamines, etc.¹⁴². Cependant, divers facteurs de l'évolution semblent avoir bousculé cette harmonie, obligeant l'organisme humain à, sans cesse, évoluer et impactant sur le système immunitaire, la santé physique et mentale, puis l'apparition de pathologies, notamment intestinales¹⁴³.

Les plus anciens écrits, visant à lutter contre les atteintes intestinales, viennent de l'Antiquité où toutes sortes de remèdes ont été développées pour extraire ces parasites. Dès le premier siècle, des savants tels que Pline l'Ancien (23-79 ap. J.-C.)¹⁴⁴, Dioscorides (20-90 ap. J.-C.)¹⁴⁵ et Andromaque l'ancien (I^e siècle ap. J.-C.) vantent les bienfaits médicaux de certains animaux et plantes. Ainsi, ce dernier traitait ces infections avec un mélange de viande de vipère et de plantes médicinales infusées dans du vin et du miel. La pharmacie galénique préconisait également des solutions à base de plantes médicinales, de vésicule biliaire de taureau, de bouse de vache en poudre, etc. Dès XVI^e siècle, le tabac est utilisé en fumigation anale et, bien plus tard, l'électricité¹⁴⁶. Peu à peu, les éléments chimiques vont se substituer aux naturels avec l'apparition des traitements par métaux lourds au Moyen-Âge et à la Renaissance, à l'instar du mercure comme un traitement vermifuge¹⁴⁷. Toutefois, dans le folklore médical, certaines pratiques naturelles persistent jusqu'au XX^e siècle, telles qu'une boisson faite à base de lombrics réduits en poudre dans un bouillon de lait¹⁴⁸. L'usage des antibiotiques marque alors un vrai tournant dans le domaine de la santé.

La compréhension de la machine humaine, de ses maux, et la recherche de substances naturelles apaisantes ou curatives sont aussi anciennes que l'Homme lui-même. Il est alors possible d'envisager que le concept de l'antibiose ait été connu dans un passé sans écriture.

¹⁴² LEPAGE P. Le microbiote intestinal humain : interactions avec l'hôte et dysfonctions. *Feuillets de Biologie* 2015 ; 323.

¹⁴³ GERARD P. Le microbiote intestinal : composition et fonctions. *Phytothérapie* 2011 ; 9 : 72.

¹⁴⁴ PLINE L'ANCIEN. *Histoire naturelle*. Collection Bibliothèque de la Pléiade, Paris, Gallimard, 1848-1850.

¹⁴⁵ DIOSCORIDES. *De materia medica. Five books in one volume*, trad. T.A. Osbaldeston, Johannesburg, Ibis Press, 2000

¹⁴⁶ JACQUES-MARIN S. *L'esprit des médecines anciennes*. Cheminement. 2005

¹⁴⁷ CHARLIER P. Qui a tué la Dame de Beauté ? Étude scientifique des restes d'Agnès Sorel (1422-1450). *Histoire des Sciences médicales* 2006 ; 40(3) : 255-263.

¹⁴⁸ JACQUES-MARIN S. *L'esprit des médecines anciennes*. Paris, Cheminement, 2005.

En effet, une récente étude rapporte un cas de médication par le champignon *Penicillium* chez un sujet du Néandertal atteint du parasite intestinal *Enterocytozoon bieneusi*¹⁴⁹.

Cette succession d'ingestion de substances naturelles ou synthétiques, et notamment l'apport de nouvelles bactéries bactéricides dans l'organisme, a permis l'amélioration de la qualité et de l'espérance de vie mais a pu, à terme, influencer l'appauvrissement du microbiome et mener à l'apparition de nouvelles pathologies digestives.

L'intérêt scientifique pour ces populations parasitaires anciennes démarre avec les travaux de Sir Marc Armand Ruffer sur ces restes archéologiques humains exceptionnels que sont les momies égyptiennes¹⁵⁰. Dès lors, les travaux se multiplient et le matériel d'étude se diversifie. L'échantillonnage vise désormais tout dépôt susceptible de contenir des parasites humains ; latrines/coprolithes, sédiment abdominal dans les inhumations et dépôts tartriques. L'outil privilégié est la microscopie optique, par le biais de coupes histologiques à l'époque ou de lames et lamelles actuellement. À la fin des années 70, l'apparition de méthodes de séquençage de l'ADN (Maxam-Gilber et Sanger) marque un tournant majeur dans l'étude du microbiome.

Les études métagénomiques se concentrent alors sur des cas médicaux contemporains dans le but de comprendre le rôle du microbiome dans certaines pathologies (diabète, surpoids, maladies cardio-vasculaires, etc.)^{151,152}, sur des cas archéologiques épisodiques^{153,154,155,156,157}, sur des populations indigènes anciennes^{158,159,160,161} ou des peuples

¹⁴⁹ WEYRICH L.S. *et al.* Neanderthal behaviour, diet, and disease inferred from ancient DNA in dental calculus. *Nature* 2017.

¹⁵⁰ RUFFER M.A. Note on the presence of "*Bilharzia haematobia*" in Egyptian mummies of the twentieth dynasty. *Br Med J.* 1910 ; 16 : 65.

¹⁵¹ DUNE J.L., *et al.* The intestinal microbiome in type 1 diabetes. *Clin Exp Immunol.* 2014 ; 177(1) : 30–37.

¹⁵² FU J. *et al.* The gut microbiome contributes to a substantial proportion of the variation in blood lipids. *Circulation research* 2015 ; 117(9) : 817-824.

¹⁵³ JONES A.K.G. *Parasitological investigations on samples of organic material associated with human burials at the roman inhumation cemetery at Poundbury.* Dorset. York, UK. Historic Buildings and Monuments Commission for England. York, University of York, 1987.

¹⁵⁴ JONES A.K.G. Parasitological Investigations on Lindow Man. *In* : STEAD I.M., BOURKE J.B., and BROTHWELL D. (eds). *Lindow Man, The Body in the Bog.* Publication of the Trustees of the British Museum, London, 1986.

¹⁵⁵ ROUSSET J.J., HERON C., METROT P. Helminthoses humaines chez les Gaulois. *His. des Sci. Med.* 1996 ; 30 : 41-46.

traditionnels actuels^{162,163}. Il s'agit d'échantillons individuels ou collectifs de populations contemporaines et/ou d'un corpus limité dans le temps et l'espace dans le but d'identifier les parasites et les maladies générées chez nos ancêtres ou nos contemporains.

Depuis le début des années 2000, les informations relatives à l'évolution du microbiome influençant la santé et aux atteintes dues aux progrès sanitaires (urbanisation, réfrigération, émergence de l'hygiène, vaccination et médication) interroge la communauté scientifique^{164,165,166,167}. De nombreuses études spécifiques sont actuellement en cours sur l'identification du microbiote intestinal sur les restes humains anciens, mais aucune étude diachronique majeure n'a encore été réalisée.

On note ainsi deux temps principaux, dans l'histoire de la recherche, liés à l'hygiène; le mouvement hygiéniste, naissant des découvertes de scientifiques comme Antoine-Laurent de Lavoisier (1743-1794), François-Vincent Raspail (1794-1878) et Louis Pasteur (1822-1895) puis promu durant tout le XIX^e siècle. Cet élan vise à changer les comportements sociaux et médicaux après la découverte de micro-organismes nuisibles et de comportements

¹⁵⁶ MITCHELL P.D. Human parasites in the Roman World : health consequences of conquering an empire. *Parasitology* 2015 ; 1-11.

¹⁵⁷ MITCHELL P.D., et al. The intestinal parasites of King Richard III. *Lancet* 2013 ; 382 : 888.

¹⁵⁸ SANTIAGO-RODRIGUEZ T.M. et al. Taxonomic and predicted metabolic profiles of the human gut microbiome in pre-Columbian mummies. *FEMS Microbiol Ecol.* 2016 ; 92(11).

¹⁵⁹ CANO J.R., et al. Paleomicrobiology : Revealing Fecal Microbiomes of Ancient Indigenous Cultures. *Plos one* 2014 ; 9 : 9.

¹⁶⁰ DARLING M.I. et DONOGHUE H.D. Insights from paleomicrobiology into the indigenous peoples of pre-colonial America - A Review. *Mem. Instituto. Oswaldo Cruz* 2014 ; 109(2) : 131-139.

¹⁶¹ CASTILLO-ROJAS G., CERBON M.A, LOPEZ-VIDAL Y. Presence of *Helicobacter pylori* in a Mexican Pre-Columbian Mummy. *BMC Microbiology* 2008 ; 8 : 119.

¹⁶² TITO R.-Y. et al. Subsistence strategies in traditional societies distinguish gut microbiomes. *Nature communications* 2015 ; 6 : 6505.

¹⁶³ SANKARANARAYANAN K. et al. Gut Microbiome Diversity among Cheyenne and Arapaho Individuals from Western Oklahoma. *Current Biology* 2015 ; 25 : 1-9.

¹⁶⁴ MADHUSOODANAN J. Ancient teeth reveal clues about microbiome evolution. *PNAS* 2016 ; 113(21) : 5764-5765.

¹⁶⁵ WARINNER C. et al. Ancient human microbiomes. *Journal of Human Evolution* 2015 ; 79 : 125-136.

¹⁶⁶ KONDRASHOVA A., SEISKARI T., ILONEN J., KNIP M., HYOTY H. The 'Hygiene hypothesis' and the sharp gradient in the incidence of autoimmune and allergic diseases between Russian Karelia and Finland. *APMIS* 2013 ; 121 : 478-93.

¹⁶⁷ DRANCOURT M. et RAOULT D. Palaeomicrobiology : current issues and perspectives. *Nature reviews Microbiology* 2005 : 3.

sanitaires générant leur propagation. Il s'agit alors de prévenir et lutter contre ces parasites. Puis ces dernières décennies, apparaît l'hypothèse hygiéniste, ciblant les dérives du premier mouvement, et dénonçant une hygiène poussée à son paroxysme.

Dès l'apparition de nouveaux modes de traitements intrusifs, certaines personnalités alertent l'opinion publique contre leur danger. Ainsi, Molière (1622-1673) se méfiait des nouvelles drogues, et notamment les métaux lourds comme le mercure, estimant que la guérison se fait naturellement et que les traitements tuent¹⁶⁸. En 1860, après plusieurs siècles d'utilisation des métaux lourds, François-Vincent Raspail (1794-1878) proscrit l'usage de ces éléments¹⁶⁹. En 1945, Alexander Fleming, découvreur de la pénicilline, avait déjà mis en garde sur la surutilisation de cette toxine, laquelle pouvait engendrer une résistance immunitaire¹⁷⁰, suivi, en 1954, du médecin britannique Lindsey W. Batten¹⁷¹.

Près d'un demi-siècle plus tard, la résistance aux antimicrobiens devient une préoccupation mondiale majeure¹⁷² pouvant engendrer une véritable crise sanitaire. En effet, il apparaît une utilisation abusive des médicaments touchant les domaines médicaux et agricoles. Cette domestication (microbienne) médicalisée nous met face à une évolution semi-naturelle des micro-organismes et à un impact sanitaire « régressif » grave ; « durée plus longue de la maladie, hausse de la mortalité, hospitalisation prolongée, protection affaiblie lors d'une intervention chirurgicale ou d'autres actes médicaux »¹⁷³, que les autorités tentent de maîtriser par une utilisation plus raisonnée et la création de médicaments anti-infectieux.

L'antibiothérapie, associée à l'apparition de l'hygiène (pasteurisation, la réfrigération, conserves et une organisation sanitaire urbaine), a contribué de manière remarquable à la croissance de l'espérance et de la qualité de vie en diminuant la mortalité infantile, les maladies infectieuses, les pathologies lourdes, etc. Cependant, bien que les antibiotiques contrôlent voire éradiquent les microbes pathogènes, ils agissent de même sur les bactéries

¹⁶⁸ Lettre de M** sur la vie & les ouvrages de Molière. *Mercure de France, dédié au roy*. Paris, 1735.

¹⁶⁹ RASPAIL F.V. *Histoire naturelle de la santé et de la maladie chez les végétaux et chez les animaux en général, et en particulier chez l'homme : suivi du formulaire pour une nouvelle méthode de traitement hygiénique et curatif*. Paris, Editeur des ouvrages de M. Raspail, 1860.

¹⁷⁰ BEAULIEU J. Une formule étrange : guerres + négligence = pénicilline. *Médecine*. 2013 ; 9(7) : 329-330.

¹⁷¹ BATTEN W.L. Discussion on the Use and Abuse of Antibiotics. *Proceedings of the Royal Society of Medicine* 1955 ; 48 : 360.

¹⁷² Réunion de l'ONU du 21 septembre 2016.

¹⁷³ Soixante-huitième assemblée mondiale de la santé, Point 15.1 de l'ordre du jour provisoire, A68/20, OMS, 27 mars 2015

commensales, lesquelles jouent un rôle déterminant dans la santé de leur hôte. Tous ces facteurs modifient la composition de la microflore intestinale, provoquant une altération du microbiote.

De récentes études, basées sur la comparaison du microbiome entre des sujets contemporains sains et pathologiques, démontrent l'influence de l'antibiothérapie et d'un environnement trop aseptisé et médicalisé sur le système immunitaire. L'absence de *stimulus* modifie le rôle et les actions de ce dernier, et influence notre capacité à résister à l'infection et à traiter les aliments¹⁷⁴. Ainsi, chez l'enfant^{175,176}, on observe lors de la prise d'antibiotiques, une baisse du taux de Bifidobactéries et de *Bacteroides fragilis*. Cette dysbiose* va alors déplacer l'action de défense et identifier comme menaces des éléments jusqu'ici tolérés, ouvrant la voie à de néo-pathologies : la maladie Cœliaque, le diabète, l'obésité, l'asthme, allergies, l'intestin irritable dont la maladie de Crohn et les colites ulcéreuses, etc. Chez ces derniers, on note une réduction du groupe *Clostridium* du phylum *Firmicutes* et des bactéries protectrices type *Bacteriodes*, *Eubacterium* et *Lactobacillus* puis une augmentation des *Proteobacteria*¹⁷⁷.

Ce remodelage microbien, résultant des comportements de l'Homme et de son environnement¹⁷⁸, pose la question du milieu professionnel, notamment lorsqu'il se rapporte au travail sur des sols et des restes organiques anciens.

¹⁷⁴ LANGDON A., CROOK N., DANTAS G. The effects of antibiotics on the microbiome throughout development and alternative approaches for therapeutic modulation. *Genome Medicine* 2016 ; 8 : 39.

¹⁷⁵ GROSDÉMANGE A. *Impact du microbiote intestinal sur le système immunitaire de l'enfant*. Thèse. Université de Lorraine, Faculté de pharmacie, 2014.

¹⁷⁶ PENDERS J., THIJIS C., *et al.* Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics* 2006 ; 118(2) : 511-521.

¹⁷⁷ MATIJAŠIĆ M., *et al.* Modulating Composition and Metabolic Activity of the Gut Microbiota in IBD Patients. *Int J Mol Sci.* 2016 ; 17(4) : 578.

¹⁷⁸ PEHRSSON E.C., TSUKAYAMA P., PATEL S., *et al.* Interconnected microbiomes and resistomes in low-income human habitats. *Nature* 2016 ; 533 : 212-216.

CHARLIER P., AUGIAS A. Could health only be defined by an equilibrated microbiome ?
(Soumis).

Manuscript Number:

Title: Could health only be defined by an equilibrated microbiome?

Article Type: Correspondence

Corresponding Author: Dr. Philippe Charlier, MD PhD LittD

Corresponding Author's Institution: UVSQ / AP-HP

First Author: Philippe Charlier, MD PhD LittD

Order of Authors: Philippe Charlier, MD PhD LittD; Anaïs Augias

Manuscript Region of Origin: FRANCE

Could health only be defined by an equilibrated microbiome?

Charlier P, Augias A.

The microbiome has become one of the major determinants of health.¹ We have recently proposed that the equilibrium of Man in Nature could be recognized as a determining factor in defining health (not only human but certainly beyond all animal species).² As a consequence, could a qualitative/quantitative evaluation of the microbiome constitute an exclusive marker of health, ignoring WHO's (now old) definition?

The role and consequences of the microbiome are superimposed, without one being able to disentangle one from the other. Is the disease related to an imbalance of the microbiome, or are the abnormalities of the microbiome favored by any pathology? Maybe both, but the precise mechanism is still unknown. One can only observe the existence of a vicious circle of self-maintenance disequilibrium/disease both on the infectious levels and on autoimmunity.

Previous studies show that microbiome (gut, skin, vagina) in healthy individuals is associated with its strong variety: « we found the diversity and abundance of each habitat's signature microbes to vary widely even among healthy subjects, with strong niche specialization both within and among individuals ». ³ These authors have shown that most variation in the human microbiome is not well explained by these phenotypic metadata: « Other potentially important factors such as short- and long-term diet, daily cycles, founder effects such as mode of delivery, and host genetics should be considered in future analyses ». ³

Other studies show the possibility of reconstitution of microbiome imbalances in the appearance of infectious processes.⁴ The juxtaposition of metagenomic results, both chronologically and geographically, but also the comparison of taxa distributions with pathological and environmental data, allows us to better understand their evolutionary processes.⁵

Would the possibility of adaptation of the microbiome to its environment be a characteristic element (maybe the only characteristic, at the microbiological scale) of health? In other words, a functional lacking, an increased competitiveness between bacterial / viral / mycotic species or a loss of mutualistic interactions would all be markers of a present or future disease, at least a factor favoring the development of a pathology. To paraphrase the French poet Boileau, "illness was born one day of uniformity »...

So, can health only be defined by an equilibrated microbiome? Reasonably no, this heading question is only a provocation (even if microbiome-focused therapies are in current development!⁶ Microbiome analysis is absolutely fascinating and of high interest for the interaction host-environment, but we do not have to ask too much to microbiome. Health cannot be only related to it, as a *Pierre angulaire* or the Holy Grail.

References

1. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Bioche J.* 2017;474(11):1823-36.
2. Charlier P, Coppens Y, Mauraie J, et al. A new definition of health? An open letter of autochthonous peoples and medical anthropologists to the WHO. *Eur. J. Intern. Med.* 2017;37:33-37.
3. Huttenhower C, Gevers D, Knight R, et al. Structure, function and diversity of the healthy human micro biome. *Nature* 2012;486:207-214.
4. D'Argenio V, Torino M, Precone V, et al. The cause of death of a child in the 18th century solved by bone micro biome typing using laser microdissection and next generation sequencing. *Int J Mol Sci.* 2017;18:109.
5. Warinner C, Herbig A, Mann A, et al. A rebuts framework for microbial archaeology. *Anna Rev Genom Hum Genet.* 2017;18(13):1-36.
6. Stalenhoef JE, Terveer EM, Knetsch CW, et al. Fecal microbiota transfer to multidrug-resistant Gram-negatives: a clinical success combined with microbiological failure. *Open Forum Infect Dis.* 2017;4(2):ofx047.

CHARLIER P., CLAVERIE J.M., SANSONETTI P., COPPENS Y., AUGIAS A.,
JACQUELINE S., RENGOT F., DEO S. Re-emerging infectious diseases from the past:
Hysteria or real risk? *European Journal of Internal Medicine* 2017.



Contents lists available at ScienceDirect

European Journal of Internal Medicine

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ejim

Original Article

Re-emerging infectious diseases from the past: Hysteria or real risk?

Charlier Philippe^{a,b,*}, Claverie Jean-Michel^{c,d}, Sansonetti Philippe^{e,f}, Coppens Yves^g, Augias Anaïs^a, Jacqueline Sophie^a, Rengot Fanny^a, Deo Saudamini^a^a Section of Medical and Forensic Anthropology (UVSQ & EA4569), UFR of Health Sciences, 2 Avenue de la Source de la Bièvre, 78180 Montigny-Le-Bretonneux, France^b CASH & IPES, 403 Avenue de la République, 92000 Nanterre, France^c Information Génomique & Structurale (UMR7256), Institut de Microbiologie de la Méditerranée, Aix-Marseille University & CNRS, Marseille, France^d Assistance Publique des Hôpitaux de Marseille (APHM), Marseille, France^e Chaire de Microbiologie, Collège de France, Place Marcelin Berthelot, 75005 Paris, France^f Institut Pasteur, rue Vaugirard, 75014 Paris, France^g Chaire de Paléo-anthropologie, Collège de France, Place Marcelin Berthelot, 75005 Paris, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 14 June 2017

Accepted 16 June 2017

Available online xxxx

Keywords:

Infectious diseases

Bio-risk

Internal medicine

Medical anthropology

ABSTRACT

Background: Work on human remains and old biological samples is a potential source of contamination by conventional or atypical infectious agents. Similarly, current and future environmental changes are a source of resurgence of ancient epidemic diseases. To what extent are anthropologists sorcerer apprentices (especially those working on ancient samples, i.e. paleo-anthropologists)? Are ancient skeletons, palaeosols and museum objects with a biological component at risk for current populations? Unless there are unfounded fears and undue risk... What can be learned from the recent scientific literature and the common sense of the researchers?

Methods: We have attempted to compile data from the literature and from our personal experience in the fields of anthropology, clinical medicine and epidemiology, in order to grasp the reality of the risk to the human population.

Results: It appears that the risk is real, but extremely limited. Specific and simple protective measures must be taken in terms of overall and individual health, both in the field and in the laboratory.

Conclusion: These data are important for the internist, due to the possibility of atypical infections, both in specialized workers and in populations at risk (environmental context).

© 2017 European Federation of Internal Medicine. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

To what extent are anthropologists sorcerer apprentices (especially those working on ancient samples, i.e. paleo-anthropologists)? Are ancient skeletons, palaeosols and museum objects with a biological component at risk for current populations? Unless there are unfounded fears and undue risk... What can be learned from the recent scientific literature and the common sense of the researchers?

2. Field anthropology

Publications have already shown the persistence of infectious agents in permafrost [1–4]. The “resuscitation” of a seed preserved for about 30,000 years in the Siberian permafrost [5] opened the door to disciplinary fields stemming from medicine and molecular biology: if a plant can be regenerated, why not a virus, a bacterium or another parasite? This layer of permanently frozen ground can measure up to 1.5 km-thick in

Siberia, but each summer, the active layer is melting, rests-ending previously sequestered (frozen?) microorganisms. It could be up to 2.5 m thick! Archaeological excavations and worse, open-pit mining involve the handling of large volumes of permafrost (the Mirny mine, the largest artificial cavity in the world, required million tons of Eastern Siberian permafrost to be excavated!), thus raising the potential risk of resurgence of past infectious agents. Until now, only innocuous viruses (infecting amoeba!) have been revived: Pithovirus sibericum [6], Mollivirus sibericum [7]. But quid of those that might have infected past human and animal populations? In 2016, an anthrax epidemic affected reindeer herders in Russia (the bacterium was a strain from 1914); [8] this phenomenon is well known and considered recurrent by epidemiologists and local populations [9,10].

Luckily, these areas were almost deserted. However, this might quickly change with the melting of sea ice opening the way to the shipping of the large equipment necessary for various industrial exploitations, as well as to the many workers that they will employ. Each erosion of permafrost potentially constitutes a breach in a past infectious pool. What allows survival is the cold, lack of oxygen and obscurity. The old exhumed microbes are quickly sterilized (this happens every

* Corresponding author.

E-mail address: philippe.charlier@uvsq.fr (C. Philippe).

summer) as soon as they get to the surface. On the other hand, the risk is real for workers in immediate contact with permafrost which has just been excavated.

The causes of the disappearance of Neanderthal populations (around 30,000 years ago) are still unknown, but the infectious hypothesis is not excluded (virus or bacteria) [11]. In this case, is there not a real risk of exhuming such ancient infectious agents, that may prove even more dreadful to *Homo sapiens*, especially if our species was never in contact with them?

Now started, the development of human industrial activities in the arctic will be hard to stop. However, if bizarre or atypical infections occur in workers working in the context of paleo-soil resurgence, they should be quarantined and surrounded by infectious diseases experts rather than be transferred to a large city hospital unprepared to the risk of spreading a re-emerging infection. It is essential to set up a reporting organization within WHO and adapt industrial prospecting to this risk. It could be only theoretical... but it becomes real each time an anthrax epidemic arises; the 2016 epidemics got a worldwide media attention because human cases were reported; it is probable that many people have died of similar epidemic before without us knowing, in absence of reporting and... internet!

A similar concern should probably be extended to archaeologists working on more recent periods. The isolation of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (CCHFV) protein elements in an Iron Age ceramic (750–400 BCE) found in Germany [12] shows the excellent conservation of viral structures in another chrono-cultural and environmental context. Does contact with 17th c. (1643–1665) Lithuanians mummies infected with smallpox represent a risk of spreading a new epidemic? [13] The laboratory was indeed specialized in past DNA, without any of all the security means devoted to the most dangerous viruses (BSL4, according to the classification of US Center for Disease Control and Prevention)... [14]

In addition, some of these infectious agents have antibiotic resistance capabilities that are absolutely frightening: the recently published gut microbiome of an 11th c. AD pre-Columbian Andean mummy put to light Firmicutes as the most abundant bacterial group, with *Clostridium* spp. comprising up to 96.2% of the mummified gut, while *Turicibacter* spp. represented 89.2% of the bacteria identified in the paleofeces. DNA sequences homologous to *Clostridium botulinum*, *Trypanosoma cruzi* and human papillomaviruses (HPVs) were also identified. Unexpectedly, putative antibiotic-resistance genes including beta-lactamases, penicillin-binding proteins, resistance to fosfomycin, chloramphenicol, aminoglycosides, macrolides, sulfa, quinolones, tetracycline and vancomycin, and multi-drug transporters, were also identified.

Similarly with this strain of *Paenibacillus* sp. LC231 resistant to 18 current antibiotics, found in Lechuguilla Cave, New Mexico (USA), an isolated geological structure for about 4 million years [15] Could archaeologists and speleologists be at-risk professions, vulnerable people, or “a hazardous sport”, to use Nigel Barley's expression? [16].

What could be like a science-fiction novel nevertheless corresponds to a real risk: it might be quite possible to use archaeological (or paleontological) materials to forge biological weapons for terrorist or criminal purposes... Here, a crucial question arises: is there a real methodological emergency? On the one hand to moderate the eagerness of researchers to investigate without sufficient protection on the field and in their laboratories, but also to isolate or safely seal all potentially contaminated samples already stored? Or is all this only a hysteria and unreasonable fear? If the first (legitimate?) reaction is that of the precautionary principle, it is clear that it cannot be applied to the entire planet. Ideally, we could establish of a health watch with reporting to the WHO of any atypical zoonosis occurring in a context of exposure to non-contemporary geological layers. In other words, there is a need for clairvoyance that does not prevent the pursuit of research activities (without Pasteur and Koch's audacious work, perhaps we would still hardly better understand infectious diseases than Aristotle?). So is it

not more serene and serious to continue to work and gradually estimate the risks that may be incurred?

3. Anthropological collections

A museum of anatomy, anthropology or history of medicine is comparable to a zoo or a biology laboratory. All artefacts presented to the public and available to researchers are considered vulnerable entities that are being cared for... but may present a real danger. Indeed, are not anatomical (and biological collections, in the general sense of the word), a reserve for the history of infectious agents, real bombs ready to explode, from a sanitary point of view? Museums, laboratories and storage areas are fragile infrastructures that need to be protected.

The risk of resurgence of infectious agents is real with all the ancient biological preparations (skeletons, mummies, histological slides, organs in fluid preparations) but also with all primitive art objects (headdress with feathers, fetishes with human or animal blood, etc.). There is potential for long-term preservation and bioavailability of perennial infectious agents. Hence the need to protect against this risk of bio-terrorism.

The development of biohackers or “DIY biology” on the impulse of Kay Aull (Boston, USA) shows that it is not necessary to have a large research laboratory to work with infectious agents [17], including when synthesizing a virus from scratch in the absence of natural template [18]. This democratization of molecular biology goes hand in hand with a risk of manipulation errors, external diffusion and disasters (kind of apprentice wizards). If the biohackers' congress in London in 2011 set up a DIYbio Code of Ethics introducing responsibility and a ban on “doing evil”... who do adhere to it, since it has no obligation (total freedom of action)?

If “Statues also die” (to take the title of a famous film by Alain Resnais and Chris Marker in 1953), statues are also sick and contagious. The same applies to all anatomical, anthropological and biological (organic) collections in general. The impetus for this massive displacement of potential infectious agents was given at the end of the 18th century when James Cook reported innumerable stuffed Pacific birds (infected with viruses, bacteria, fungi) and constituted a fashion for ornithological museums in Paris, London, Berlin, etc. Several millions will be transferred from one environmental context to another within a few generations.

All the museum objects, potentially “alive”, are not behind a tight showcase. Objects circulate between museums, collections are shipped for analysis, jars or showcases are opened for restorations (addition of preservation liquid, for example, change of container, etc.) or sampled for research purposes. At each stage, there might be a risk of release of infectious agents. When millions of visitors enter the National Museum of Natural History (NYC) each year, there is a risk of extremely infectious processes spreading to children (school groups), tourists, and the general public in general, in addition to the researchers and restorers themselves. Exhibition is exposure to a higher danger, almost like a sanitary crisis: the object came out a long time from its reserve, with a prior restoration with manipulation, and an increasing visibility and accessibility. Museums should be considered as potential areas of contagion, at risk of spreading infectious agents to a non-immune population.

Consequently, what can we do with the collections of ancient histological slides with tissue preparations of Spanish flu, anthrax, plague, smallpox, Ebola? Do they entrust them to research laboratories specialized in the management of such samples (BSL4 laboratories)? Or leave these samples in place by limiting access and/or by making more secure the already existing structures (airlock system, reserve in hypoxia, etc.)? Is it necessary to decontaminate all primitive objects (projection of DDT to kill wood parasites and/or exposure to ultra-violet, for example), that is to say “fossilize” them at the risk of losing a significant amount of information about the own history of the object or to destroy a potential reserve of raw material for basic research (mainly molecular biology)? The Robert Koch Museum in Berlin (Germany) conserves thousands of fixed blades corresponding to the missions of Robert Koch in Africa... It is an example among many others, but what do we

have to do with it? Should we blindly destroy them at the risk of losing information on old pathogens, or on the contrary strongly secure them? Shall all potentially dangerous artefact suffer the same fate? It should be discussed and made proposals for openness, otherwise the shock may be harsh in terms of museography and the long-term preservation of collections that are sometimes unique.

Recent publications show the excellent preservation of infectious agents [19], but what about their virulence? This risk must be assessed by basic research in the field of biosafety [20] and preparedness, i.e. to prepare oneself for disasters to know how to react. Responsibility should be shared between WHO (which has been managing infectious agent banks since its creation in 1948) and UNESCO/ICOM (which manages museums as laboratories).

4. Conclusion

What happens when artefacts enter a museum structure, a university or research collection do not have the property of being “fossilized”, i.e. sterilized or neutralized? What happens when one discovers that objects thought to be inert or harmless are actually carrying germs? [21] What happens when the remains of smallpox [22,23] or Spanish flu [24] victims are exhumed and studied by interdisciplinary teams? There is a real interest in introducing a research laboratory into anthropological and anatomical collections [25].

Of course, the risk for researchers is to prompt yet another layer of administrative constraints already plaguing environmental research and sampling. This would be counterproductive, as research must continue to properly assess (and eventually dismiss) the reality of these infectious threats from the past. Does not the intensification of tourist movements play a much greater and dangerous role than museums, biological collections, and field work? In any case, the above set of facts renders relative and objectionable the optimism of the WHO-type agencies that boast of the eradication of this or that pathogen [26]. It seems indeed candid and even dangerous to believe that an infectious agent could disappear from our *entire* planet (especially when one ignores half of their natural hosts!). The main lesson to remember is that if we are to welcome the gradual reduction of a certain disease, we must never lower our guard (vaccine and/or pedagogy).

However, not all microorganisms, permafrost or museum artefacts (skeletons/mummies included) should be placed at the same level of risk. It is necessary to be more analytical, critical and specific. The cyclical resurgence of anthrax epidemics was expected because it is a bacterium which sporulates and there is an indisputable risk of germination with other sporulating pathogens: tetanus, botulism, but also possibly other old and “disappeared” clostridial or pathogens sporulating bacillus. This could be the immediate and major risk. Similarly, the risk of pathogenic extremophilic archaeobacteria should not be overlooked in the context of complex fossil flora. However, the risk of survival of vegetative bacteria in these contexts is very low, but it would be necessary to know which scenario would “definitely” resurrect such bacteria. There is clearly a lot of culturomic work to be done to test the potential viability of non-sporulating vegetative bacteria, validated by a group of international experts. Similarly, if these bacteria are considered “definitively dead”, what are the scenarios and/or risks that these DNAs are conveyed to contemporary microorganisms? For viruses, the same problem of viability arises, and one must be cautious in assertions.

Lastly, concerning resistance to antibiotics, it is clear that the resistome of these microorganisms, or at least of the fossil metagenome, is essential. Conversely, finding a high density of antibiotic-resistant bacteria in a given environment is an indication of the likely presence in the same ecosystem of strong antibiotic-producing bacteria. There is thus a chance (not to be overlooked!) that paleo-microbiology might help identifying new antibiotics, as do other environmental studies. This research must continue, but with caution.

Funding

None.

Conflict of interest

All authors declare that they have no conflict of interest relative to the subject of this article.

Ethical approval (humans)

This article does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors.

Informed consent

Not applicable (patient is a paleontological pre-human fossil).

References

- [1] Voroboya E, Soina V, Gorlenko M, et al. The deep cold biosphere: facts and hypothesis. *FEMS Microbiol Rev* 1997;20:277–90.
- [2] Perry J, Wagelchner N, Wright G. The prehistory of antibiotic resistance. *Cold Spring Harb Prospect Med* 2016;6(6):a025197.
- [3] Gilichinsky DA, Vorobyova EA, Erokhina LG, et al. Long-term preservation of microbial ecosystems in permafrost. *Adv Space Res* 1992;12(4):255–63.
- [4] Shi T, Reeves RH, Gilichinsky DA, Friedman EI. Characterization of viable bacteria from Siberian permafrost by 16S rDNA sequencing. *Microb Ecol* 1997;33(3):169–79.
- [5] Yashina S, Gubin S, Maksimovich S, et al. Regeneration of whole fertile plants from 30,000-y-old fruit tissue buried in Siberian permafrost. *PNAS* 2012;109(10):4008–13.
- [6] Legendre M, Bartoli J, Shmakova L, et al. Thirty-thousand-year-old distant relative of giant icosahedral DNA viruses with a pandora virus morphology. *PNAS* 2014;111(11):4274–9.
- [7] Legendre M, Lartigue A, Bertaux L, et al. In-depth study of *Mollivirus sibiricum*, a new 30,000-y-old giant virus infecting *Acanthamoeba*. *PNAS* 2015;112(38):E5327–35.
- [8] Guarino B. Anthrax outbreak in western Siberia. <http://www.independent.co.uk/news/world/asia/anthrax-western-siberia-outbreak-reindeer-corpse-blamed-a7164821.html>. 31 July 2016. (accessed 14 February 2017).
- [9] Revich B, Tokarevich N, Parkinson AJ. Climate change and zoonotic infections in the Russian Arctic. *Int J Circumpolar Health* 2012;23(71):18792.
- [10] Revich B, Podolnaya MA. Thawing of permafrost may disturb historic cattle burial grounds in East Siberia. *Glob Health Action* 2011;4.
- [11] Houldcroft CJ, Underdown SJ. Neanderthal genomics suggests a Pleistocene time frame for the first epidemiological transition. *Am J Phys Anthropol* 2016;160(3):379–88.
- [12] Wiktorowicz CJ, Arnold B, Wiktorowicz JE, Murray ML, Kurosky A. Hemorrhagic fever virus, human blood, and tissues in iron age mortuary vessels. *J Archaeol Sci* 2017;78:29–39.
- [13] Duggan AT, Perdomo MF, Piombino-Mascoli D, et al. 17th century variolous virus reveals the recent history of smallpox. *Curr Biol* 2016;26:1–6.
- [14] <https://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmb15/bmb1.pdf> (accessed 14 February 2017).
- [15] Pawlowski AC, Wang W, Koteva K, et al. A diverse intrinsic antibiotic resistor from a cave bacterium. *Nat Commun* 2016;7:13803.
- [16] Barley N. Not a Hazardous Sport. New York: Henry Holt; 1989.
- [17] Meyer M. The virus, the genius and the ministry. *Terrain* 2015;64:68–83.
- [18] Cello J, Paul AV, Wimmer E. Chemical synthesis of poliovirus cDNA: generation of infectious virus in the absence of natural template. *Science* 2002;297(5583):1016–8.
- [19] Benmoussa N, Charpentier C, Mariaggi AA, et al. HPV in squamous cell carcinoma of 19th century tonsils. *Lancet Oncol* 2016;17(11):e477–8.
- [20] Lakoff A. Preparing for the next emergency. *Anthropology Today* 2004;20(5):3–7.
- [21] Charlier P, Brun L. Anthropologie physique et risque infectieux? *Feuilles de biologie* 2014;319(55):1–3.
- [22] Biagini P, Thèves C, Balaesque P, et al. Variola virus in a 300-year-old Siberian mummy. *N Engl J Med* 2012;367(21):2057–9.
- [23] Duggan AT, Perdomo MF, Piombino-Mascoli D, et al. 17th century variolous virus reveals the recent history of smallpox. *Curr Biol* 2016;26:1–6.
- [24] Davis JL, Heginbottom JA, Annan AP, et al. Ground penetrating radar surveys to locate 1918 Spanish flu victims in permafrost. *J Forensic Sci* 2000;45(1):68–76.
- [25] Charlier P, Hervé C. What new life for the Parisian (and European) anatomical and pathological collections? Struggle for medical education. *Clin Anat* 2016. <http://dx.doi.org/10.1002/ca.22795> [Epub ahead of print].
- [26] Khalakdina A, Costa A, Briand S. Smallpox in the post-eradication era. *Wkly Epidemiol Rec* 2016;91(20):257–64.

Comme réponse naturelle, les agents pathogènes vont muter et développer une résistance aux antibiotiques, menant au décès de plusieurs milliers de personnes par an.

Les probiotiques semblent alors la solution puisqu'ils visent à maintenir le taux de bactéries non pathogènes suffisamment élevé dans le but de conserver une symbiose et ainsi renforcer le système immunitaire. Cette réintroduction de microorganismes vivants dans l'hôte humain permet de traiter des cas de maladies intestinales inflammatoires ou infectieuses¹⁷⁹. Toutefois, ceux-ci peuvent entraîner des complications comme la prise ou la perte de poids pour certains *Lactobacillus*¹⁸⁰, l'accélération du cancer du côlon ou une atteinte de l'ADN des cellules intestinales pour le cas de la bactérie *E. coli Nissle 1917*^{181,182}.

Le corps humain a dû ainsi répondre à deux invasions agressives distinctes, chacune modifiant son identité biologique : la maladie et son traitement.

¹⁷⁹ SCALDAFERRI F., GERARDI V., MANGIOLA F., *et al.* Rôle et mécanismes d'action de *Escherichia coli* Nissle 1917 dans le maintien de la rémission chez les patients atteints de colite ulcéreuse : Une mise à jour. *World Journal of Gastroenterology* 2016 ; 22 (24) : 5505-5511.

¹⁸⁰ MILLION M., ANGELAKIS E., PAUL M., ARMOUGOM F., LEIBOVICI L., RAOULT D. Comparative meta-analysis of the effect of *Lactobacillus* species on weight gain in humans and animals. *Microbial Pathogenesis* 2012 ; 53(2) : 100-108.

¹⁸¹ NOUGAYRED J. P., HOMBURG S., TAIEB F., BOURY M., BRZUSZKIEWICZ E., GOTTSCHALK G., BUCHRIESER C., HACKER J., DOBRINDT U., OSWALD E. *Escherichia coli* induces DNA double-strand breaks in eukaryotic cells. *Science* 2006 ; 313 : 848-851.

¹⁸² CUEVAS-RAMOS G., PETIT C. R., MARCQ I., BOURY M., OSWALD E., NOUGAYREDE J. P. *Escherichia coli* induces DNA damage in vivo and triggers genomic instability in mammalian cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2010 ; 107 : 11537-11542.

Le projet, mené par le Collège de France, propose de se concentrer sur un aspect spécifique, mais essentiel : comment l'avènement des mesures d'hygiène modernes a contribué à une altération significative du microbiote intestinal.

Compte tenu des contraintes liées à la taphonomie (écoulement des eaux de pluie, PH du sol, etc.), à d'éventuelles perturbations ultérieures (anthropiques ou animales), à la conservation muséale (aldéhyde formique) ou aux pratiques funéraires (momification artificielle), ayant pu altérer l'ADN et la présence microbienne dans un échantillon, il a été choisi de se concentrer, dans un premier temps, sur les dépôts latrinaires/coprolithes et donc sur un contexte collectif.

De plus, la composition du microbiote intestinal apparaît de plus en plus comme un marqueur fiable du développement et de la santé et son altération - le concept de dysbiose - comme un marqueur puissant de l'état de la maladie des individus. Ainsi, rétrospectivement, la capacité de profiler le microbiote de l'intestin offrirait une excellente occasion d'identifier les changements individuels et sociétaux auxquels les populations anciennes étaient exposées. Des questions d'une grande importance dans la médecine moderne, telles que la propagation de la résistance aux antibiotiques des bactéries, seront en partie comprises en identifiant les aspects phylogènes de l'apparition et de la propagation des gènes de résistance aux antibiotiques dans l'ère pré-antibiotique.

Il s'agira ainsi de faire la distinction *pré*, *péri* et *post*-hygiène de la composition du microbiote intestinal et de la diversité microbienne à partir de fèces humains provenant de latrines archéologiques issus de contextes chronologiques variés. L'environnement de l'hôte ayant une influence sur le microbiome¹⁸³, des contextes de stress (guerre, famine, épidémie, changement climatique), d'urbanisation et de royauté ont été sélectionnés.

La sélection des échantillons a été optimisée par un protocole en deux temps (Annexe 1) ;

- le choix du site archéologique et moderne pour sélectionner des périodes, des environnements et des contextes sociaux divers, issus d'espaces d'aisances définis voire clos (en intensifiant les sites de périodes charnières à l'hygiène).
- le prélèvement de plusieurs échantillons par site (lorsque la situation le permet) suivant leurs morphologies et leurs emplacements stratigraphiques, en s'assurant de prélever les couches supérieures, médianes et inférieures de la structure latrinaire.

¹⁸³ BEAUGERIE L., SOKOL H. Microbiote et immunité intestinale. *Les fondamentaux de la pathologie digestive* 2014 : 189-199.

Le choix des fèces comme support d'étude résulte également de l'importante densité et diversité microbienne présente dans le côlon.

Dès la naissance, des espèces successives et prévisibles se développent pour former le microbiote commensal¹⁸⁴. Cette flore intestinale se compose de près de 400 espèces bactériennes différentes, dont le nombre est compris entre 10^{11} et 10^{12} d'Unité Formant Colonie (UFO) par gramme^{185,186,187} au niveau du rectum et des selles. Ces organismes microbiens sont répartis en quatre principaux phylums (*Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* et *Proteobacteria*) formant le pilier du microbiome^{188,189,190}, lesquels se composent principalement d'anaérobies* stricts (*bactéroïdes*, *bifidobactérum*, streptocoques, lactobacilles, entérobactéries, *clostridium*, staphylocoques et pseudomonas, *Faecalibacterium*, *Eubacterium*, *Ruminococcus*)^{191,192}. Les *Firmicutes* représentent la grande majorité de l'écosystème microbien humain, suivit en plus faibles proportions, des *Bacteroidetes*, des *Proteobacteria* et des *Actinobacteria*^{193,194} puis d'autres espèces.

Au-delà de l'influence de la composition du microbiome individuel dans l'apparition de pathologie, le passé sanitaire commun pourrait être un facteur de dysbiose générale. En effet, bien que les espèces bactériennes spécifiques soient propres à l'individu, l'augmentation

¹⁸⁴ LANGDON A., CROOK N., DANTAS G. The effects of antibiotics on the microbiome throughout development and alternative approaches for therapeutic modulation. *Genome Medicine* 2016 ; 8 : 39.

¹⁸⁵ LESER T.D., MOLBAK L. Better living through microbial action : the benefits of the mammalian gastrointestinal microbiota on the host. *Environmental Microbiology* 2009 ; 11 (9) : 2194-2206.

¹⁸⁶ GROSDEMANGE A. *Impact du microbiote intestinal sur le système immunitaire de l'enfant*. Thèse. Université de Lorraine, Faculté de pharmacie, 2014.

¹⁸⁷ BEAUGERIE L., SOKOL H. Microbiote et immunité intestinale. *Les fondamentaux de la pathologie digestive* 2014 : 189-199.

¹⁸⁸ *Ibid.*

¹⁸⁹ LEPAGE P. Le microbiote intestinal humain : interactions avec l'hôte et dysfonctions. *Feuillets de Biologie* 2015 ; 323 : 41-48.

¹⁹⁰ MATIJAŠIĆ M., *et al.* Modulating Composition and Metabolic Activity of the Gut Microbiota in IBD Patients. *Int. J. Mol. Sci.* 2016 ; 17(4) : 578.

¹⁹¹ ANAES. Indications des examens de selles chez l'adulte. *Gastroenterol. Clin. Biol.* 2003 ; 27 : 627-642.

¹⁹² BEAUGERIE L., SOKOL H. Microbiote et immunité intestinale. *Les fondamentaux de la pathologie digestive* 2014 : 189-199.

¹⁹³ TITO R.Y., KNIGHTS D., METCALF J., OBREGON-TITO A.J., CLEELAND L., *et al.* Insights from Characterizing Extinct Human Gut Microbiomes. *Plos One* 2012 ; 7 (12).

¹⁹⁴ TITO R.Y., *et al.* Subsistence strategies in traditional societies distinguish gut microbiomes. *Nature communications* 2015 ; 6 : 6505.

ou la diminution des quatre phylums principaux sont un indice de changements caractéristiques et, par la comparaison des différents sites, d'une évolution de la diversité et des pathogènes menant à cette dysbiose. Il s'agira alors d'étudier l'influence/l'impact des divers traitements curatifs mais également des facteurs environnementaux, comportementaux et sanitaires sur la richesse et la diversité de la flore intestinale et sur son évolution. L'ensemble de ces éléments mène à un déséquilibre microbien pouvant entraîner l'apparition de pathologies telles que les allergies, les maladies auto-immunes, les maladies intestinales inflammatoires, l'obésité, le diabète et certains cancers.

Une large collection a ainsi été rassemblée, couvrant une période suffisamment longue pour pouvoir distinguer des changements significatifs avec des individus connus pour être pathologiques ou sains et des contextes de stress intense.

Une étude archéo-microbiologique complète de ces écofacts a alors été mise en place. En parallèle des analyses métagénomiques, permettant la détection et l'identification des bactéries, parasites, virus et microbes, une étude des voies métaboliques et des métaux lourds a été pratiquée.

Une véritable coalition scientifique pluridisciplinaire autour de cette même problématique s'est développée, faisant intervenir des acteurs de communautés de recherche issus de l'archéologie, de la médecine, de la chimie et de la biologie ;

- l'équipe d'Anthropologie Médicale et Médico-Légale de l'Université de Versailles-Saint-Quentin (UVSQ) pour la coordination du projet, la recherche de sites pertinents et la collecte des échantillons ainsi que la microscopie optique,
- le laboratoire de Physique des Solides de l'Université Paris-Sud XI pour la microscopie électronique à balayage (MEB),
- le plateau technique Paléogénomique et génétique moléculaire du Musée de l'Homme pour les extractions ADN et une première PCR,
- le département de génomes et génétique et le département de biologie cellulaire et Infection (unité de Pathologie Microbienne moléculaire) de l'Institut Pasteur pour le séquençage des amplicons, puis la détection et l'identification des populations microbiennes,
- le département de toxicologie biologique du CHU Lariboisière pour la détection d'éventuels polluants ou métaux lourds au sein de ces résidus latrinaires,

L'objectif premier est la distinction de différences taxonomiques notables avant et après l'apparition de la vaccination (dès 1796) et des antibiotiques (dès 1928) et de leur systématisation. Il sera alors possible de déceler un éventuel appauvrissement microbien et comprendre l'apparition de pathologies, comportements ou allergies alimentaires. Et, à terme, de proposer une éventuelle réintroduction de ces espèces disparues ciblées, par le biais de probiotiques, dans un souci de régulation de la flore intestinale.

CHAPITRE 1

CORPUS ET MÉTHODES

1.1 Contexte archéologique des écofacts

1.1.1 Latrines romaines du Quartier du théâtre de Délos, Grèce (II^e siècle av. J.-C.)

L'intérêt archéologique pour le quartier du théâtre à Délos est ancien puisque les interventions débutent dès 1893, après les fouilles du théâtre lui-même. Ces opérations archéologiques succinctes ont permis de distinguer une rue et différents bâtiments comme un sanctuaire et plusieurs secteurs d'habitations¹⁹⁵, parmi lesquelles l'habitation *E* de l'*insula II*. La présence de latrines est suspectée dès 1905¹⁹⁶ et est reconnue dès 1922. Un total de 28 latrines, privées et publiques, a été distingué.

La pièce *j* de l'habitation *E* de l'*insula II* correspond à des latrines, accessibles par un petit couloir en traversant l'atrium. Elles sont représentées par une petite pièce, pavée de dalles de gneiss et aux murs enduits, au fond de l'habitation, accolée à une petite salle d'eau et à la ruelle d'accès/vestibule de l'habitation voisine dotée d'égouts. Elles se caractérisent par des dimensions plus importantes que les autres latrines du quartier ; 3,7 m de longueur, 1,90 m de largeur et 0,80 m à 1,25 m de profondeur. Des pierres situées aux coins du bâtiment témoignent de la présence de banquettes en bois dans la partie ouest de la pièce. Sous le pavement se trouve une conduite d'adduction d'eau issue « du trop-plein de la citerne principale située sous l'atrium ». Le collecteur de ce dernier est drainé par la petite salle d'eau attenante, dont l'eau du bain s'écoule sur les dalles des latrines. Les eaux usées sont ensuite évacuées dans le trop-plein de la citerne principale via une conduite verticale dans le mur sud-est aux parois couvertes d'enduit hydraulique (Fig. 1)¹⁹⁷.

¹⁹⁵ CHAMONARD J. Fouilles de Délos (1904) : fouilles dans le quartier du Théâtre. *Bulletin de correspondance hellénique*. 1906 ; 30(1) : 485-606.

¹⁹⁶ *Ibid.*

¹⁹⁷ CHARLIER P., *et al.* La lutte contre les mauvaises odeurs : ce qu'apportent le nettoyage et l'étude du matériel des latrines romaines de l'habitation II E J (Délos, Quartier du théâtre). *Ve colloque international de pathographie*. Paris, De Boccard, 2013.

Les échantillons (Annexe 2) ont été prélevés en 2007 à l'occasion d'une campagne de nettoyage et de prélèvements dédiée à la compréhension des vestiges sanitaires de l'habitation *II E j*. Les premières études des stercolithes ont été menées à cette occasion. Leur aspect calcifié compliquant l'analyse, une décalcification préalable à l'acide acétique a dû être mise en place dans le but d'effectuer la microscopie optique. Cette dernière a permis l'observation de restes végétaux, filaments mycéliens, de cellules malpighiennes et des spicules d'éponges. Ces analyses (élémentaires, paléo-parasitologiques et microscopiques) ont permis de déceler la pratique hygiénique de l'essuyage par le biais de *pessos** ainsi que l'ingéniosité du dispositif d'évacuation des eaux usées, sans toutefois, pouvoir identifier la présence de parasites intestinaux¹⁹⁸.

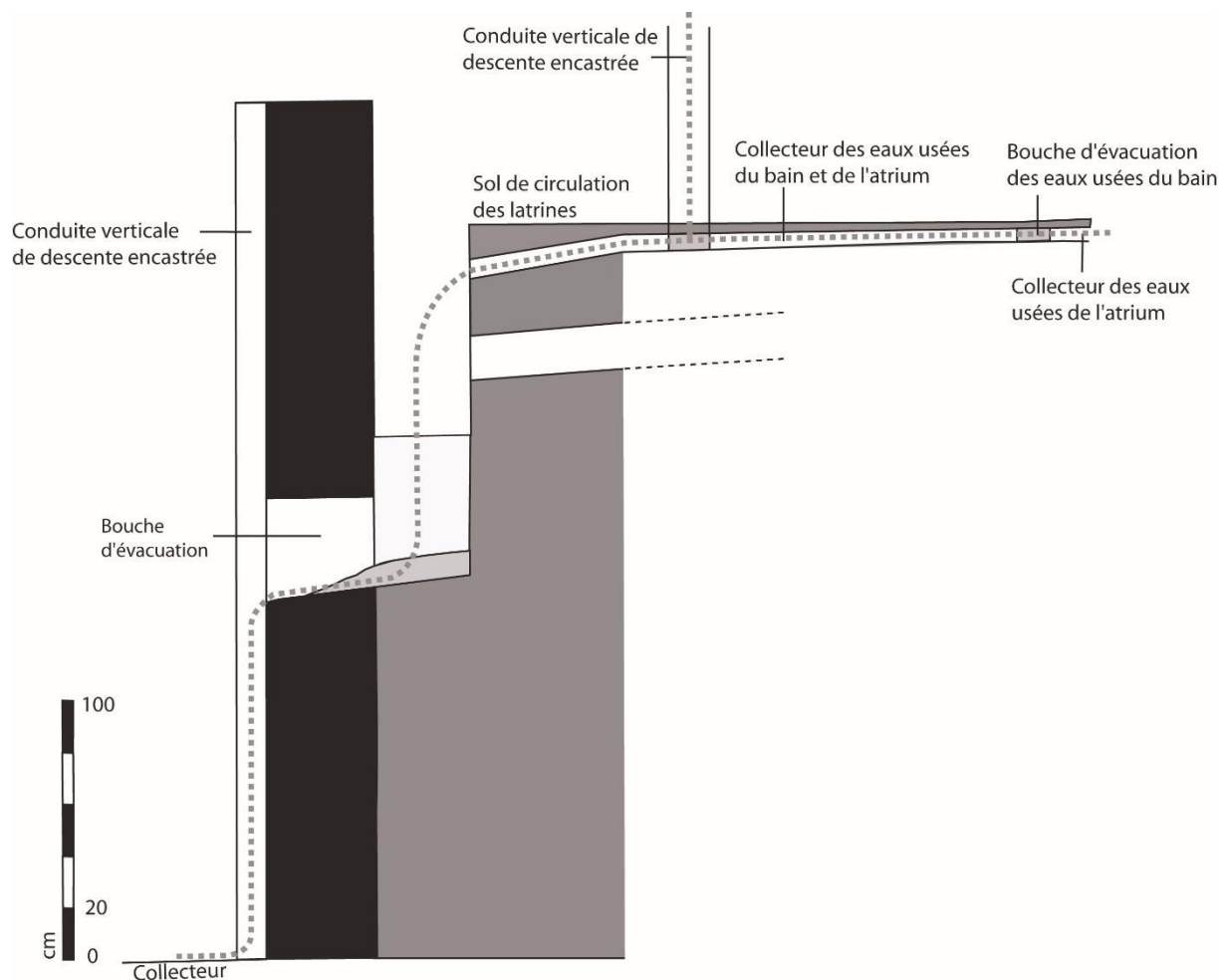


Fig. 1 - Coupe général de la circulation des eaux dans les latrines romaine de l'habitation *II E j*, Délos (©Y. Lemoine, P. Charlier).

¹⁹⁸ *Ibid.*

1.1.2 Maison-forte de Chambly (XII-XIV^e siècles)

Situé au Nord-ouest de la commune de Chambly (Oise), sur la rive gauche de la rivière Esches, la fouille archéologique préventive du site de la « rue de la motte » fait suite à l'aménagement d'un lotissement. Deux zones distinctes ont fait l'objet d'un diagnostic ; une motte féodale et la basse-cour présumées.

Outre le creusement de nombreux fossés parcellaires aux XI-XII^e siècles et la densification des structures en creux correspondant à une occupation de type agro-pastorale, la fouille n'a pas confirmée la présence d'un tertre mais a mis en évidence une maison-forte s'implantant dans le courant du XII^e siècle. La construction se caractérise par deux bâtiments maçonnés et d'un puits dans un large fossé circulaire doublée d'une levée de terre interne. Le rôle défensif de l'établissement est lié à la présence de marais, résultant du caractère inondable de la plaine, et d'une mise en eau perpétuelle des douves.

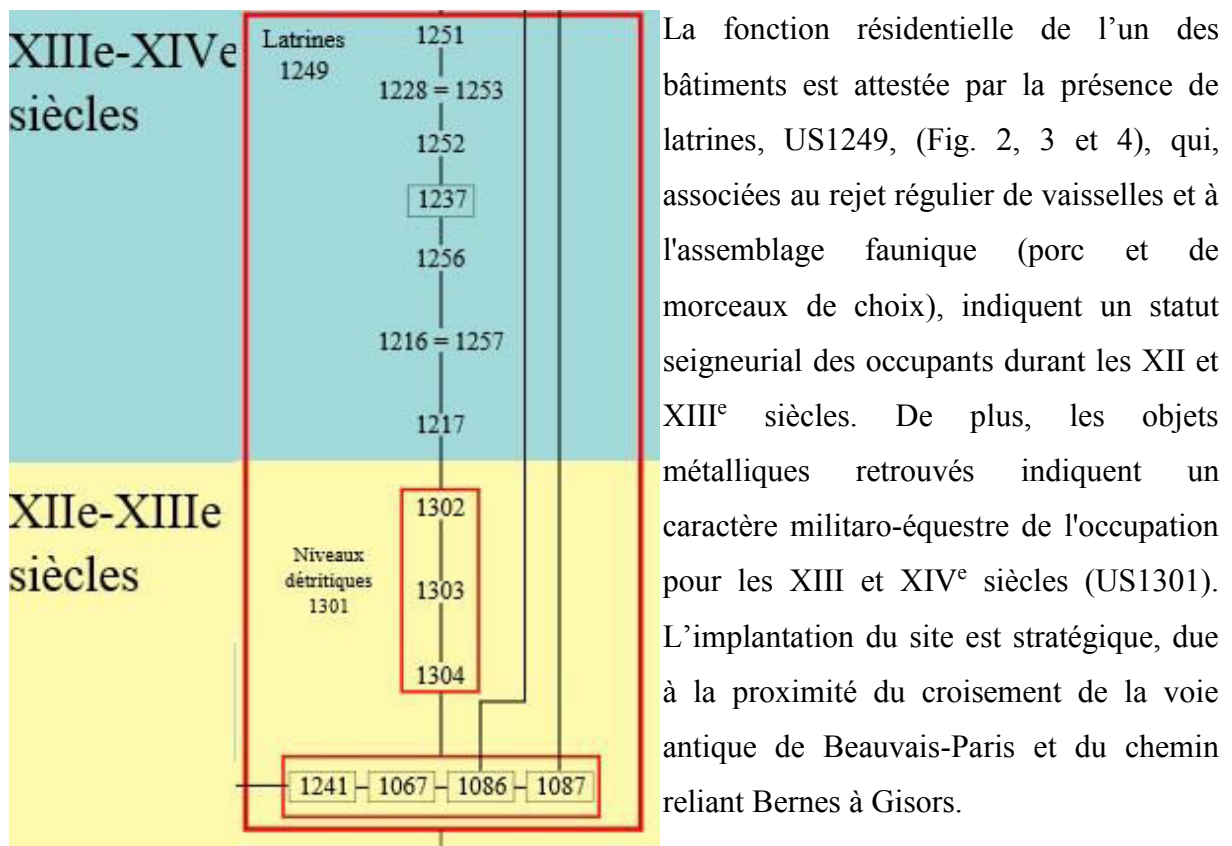


Fig. 2 - Diagramme stratigraphique des niveaux latrinaires de la Maison-forte de Chambly (© Isabelle Caillot).

L'abandon du site intervient courant du XIV^e siècle, durant la guerre de Cent ans et la révolte paysanne nommée la Grande Jacquerie (1358).

Les latrines du bâtiment sont inondées et les 11 prélèvements se caractérisent alors par un aspect boueux conservant une forte odeur (Annexe 3). Pour les analyses parasitologiques, ces derniers ont été renommés avec la lettre C pour Chambly suivi du numéro de prélèvement initialement donné par les responsables de l'opération de fouille archéologique ; C47, C49, C51, C53, C55, C57, C59 et C61 datant des niveaux détritiques des latrines des XII^e et XIII^e siècles, et C34, C35, C36, datant des niveaux latrinaires des XIII^e et XIV^e siècles.



Fig. 3 - Cliché photographique des latrines de la maison-forte de Chambly (© Isabelle Caillot).

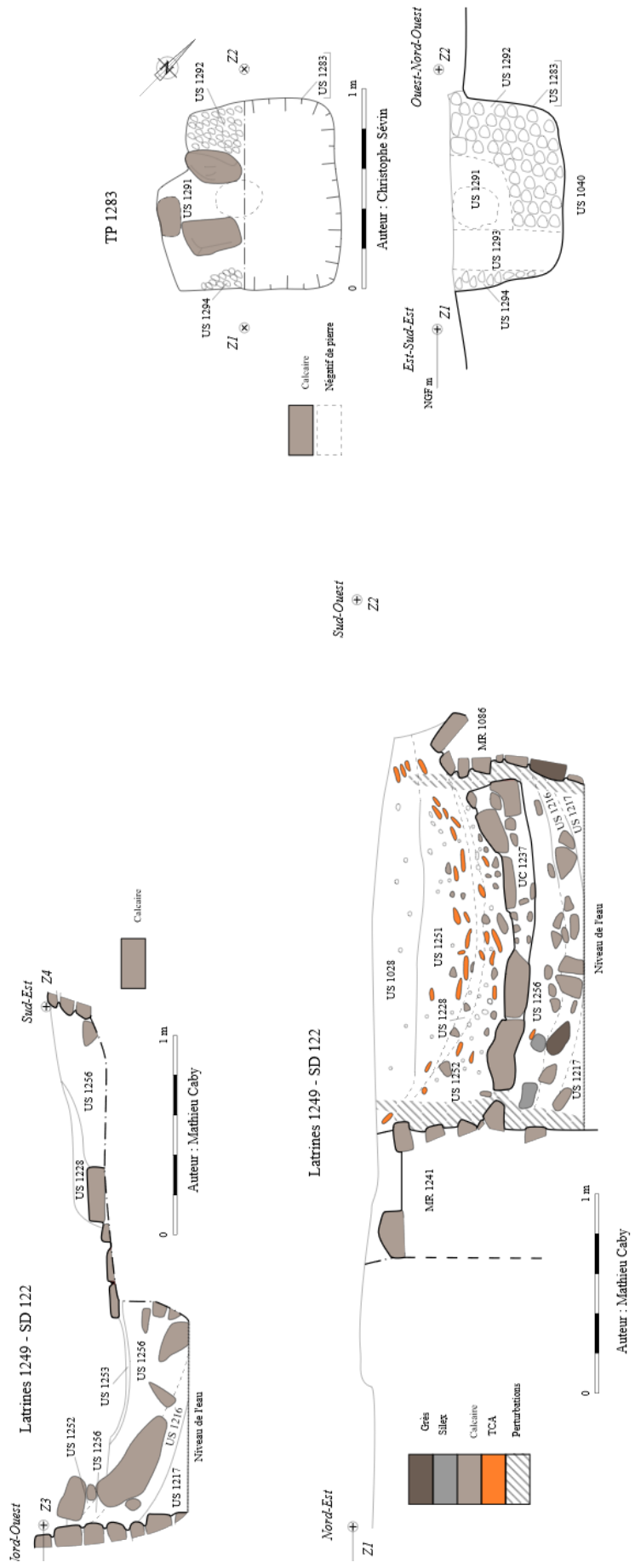


Fig. 4 - Relevé stratigraphique des latrines de la maison-forte, Chambly (© Mathieu Caby, Christophe Sévin).

1.1.3 Château de Marly (XVIII^e siècle)

Le château de Marly (Fig. 5), situé à Marly-le-Roi dans les Yvelines, construit dans les années 1680, fait partie des monuments français chargés d'histoire. Dédié aux plaisirs et au repos de Louis XIV et de ses invités, parmi lesquels Molière et Racine, il fut l'un des joyaux architecturaux de la royauté française. À partir de la mort du roi en 1715, il est, par étapes successives, démantelé dès le règne de Louis XV. Le dernier séjour de la cour royale date de 1789, sous le règne de Louis XVI, avant d'être vendu en 1795 comme bien national¹⁹⁹. Le domaine est démoli à partir de 1805 par Napoléon puis le terrain nu est repris par ledit empereur. Le terrain du château de Marly est alors abandonné lors de la chute de l'empire en 1815.

Les premières opérations archéologiques sont réalisées peu de temps après la destruction du château, entre 1860 et 1870²⁰⁰, et se concentrent sur la reconstitution du carrelage du Pavillon royal²⁰¹. Pour sauvegarder ce patrimoine, l'association « Les Amis du Vieux Marly » est créée en 1923 et mène au classement total du domaine en 1932. En 1933, l'« île » du grand bassin, composée de débris architecturaux, est fouillée. Les opérations se concentrent ensuite sur les bassins de faïence du domaine. Les différentes opérations archéologiques effectuées dès 1988 sur le bâti du domaine du Château de Marly, ont permis de mettre au jour quatre pavillons sur un total de treize. Tous sont dotés de cabinets d'aisances situés dans les pièces de services. L'emplacement de ces latrines, construites en 1680 et utilisées jusqu'en 1789, induit une utilisation par les domestiques pour leur usage, ainsi que pour la vidange de pots de chambre. Un premier échantillon a été prélevé dans les latrines du 2^{ème} pavillon du Levant lors de fouilles archéologiques menées dans les années 90 et a été étudié par des analyses microbiologiques par le professeur Françoise Bouchet (Faculté de Pharmacie, Reims). Les résultats ont mis en évidence la présence d'œufs de *taenia*, d'*ascaris**, de bothriocéphale et de trichocéphale, révélant les conditions sanitaires précaires de ses usagers²⁰².

¹⁹⁹ MESTER DE PARAJD G. Le domaine de Marly aujourd'hui. *Bulletin du Centre de recherche du château de Versailles*, 2012 [En ligne] mis en ligne le 18 décembre 2013, consulté le 06 janvier 2017.

²⁰⁰ BOUCHET F. Enquête épidémiologique sur les helminthiases à la cour de Louis XIV. *Médecine/Sciences* 1998 ; 14 : 463-466.

²⁰¹ HEITZMANN A. Archéologie à Marly : bilan et perspectives. *Bulletin du Centre de recherche du château de Versailles*, 2012 [En ligne] mis en ligne le 18 décembre 2013, consulté le 06 janvier 2017.

²⁰² BOUCHET F. Enquête épidémiologique sur les helminthiases à la cour de Louis XIV. *Médecine/Sciences* 1998 ; 14 : 463-466.

En 2013, les fouilles archéologiques programmées ont débuté dans le parc du domaine national de Marly, soit quatre ans après sa mise sous gestion à l'Établissement public du château de Versailles. Après la mise au jour des vestiges de l'ancien bassin des Nappes et de la grande cascade la Rivière, les fouilles se sont concentrées en 2014 sur le 3^{ème} Pavillon du Levant, qui est un pavillon d'invités, et en 2015 sur le Pavillon du roi.

Pour les analyses parasitologiques, les prélèvements latrinaires, provenant des deux pavillons précédemment cités, ont été renommés avec la lettre M pour Marly suivi du numéro de prélèvement initialement donné par les responsables de l'opération de fouille archéologique ;

- M20 (datation probable avant 1789) est un échantillon du fond d'un aqueduc d'eaux pluviales (US 4132). Le dépôt présente un aspect brun et une humidité moyenne (Annexe 4).
- M21 à M25 sont issus des latrines de l'appartement du roi au Pavillon du roi (Fig. 6, 7 et 8) datées du début du XVIII^e siècle (US 1326), lesquelles ont été curées lors du dernier séjour royal en 1789. Les échantillons (Annexe 4) se caractérisent par une terre noirâtre adhérente aux pierres de parement (parasitologie et toxicologie). Ces cinq échantillons ont été prélevés de haut en bas par tranche de 30 cm sur une hauteur dégagée de 120 cm.
- M26 et M27 proviennent des latrines du 3^{ème} Pavillon du Levant (Annexe 5), prélevées en 2014 (US 1043). Ces fosses d'aisances datent probablement des derniers séjours de la cour avant 1789. Le sédiment présente également une teinte noirâtre, mais conserve une humidité et un aspect organique (Annexe 6).

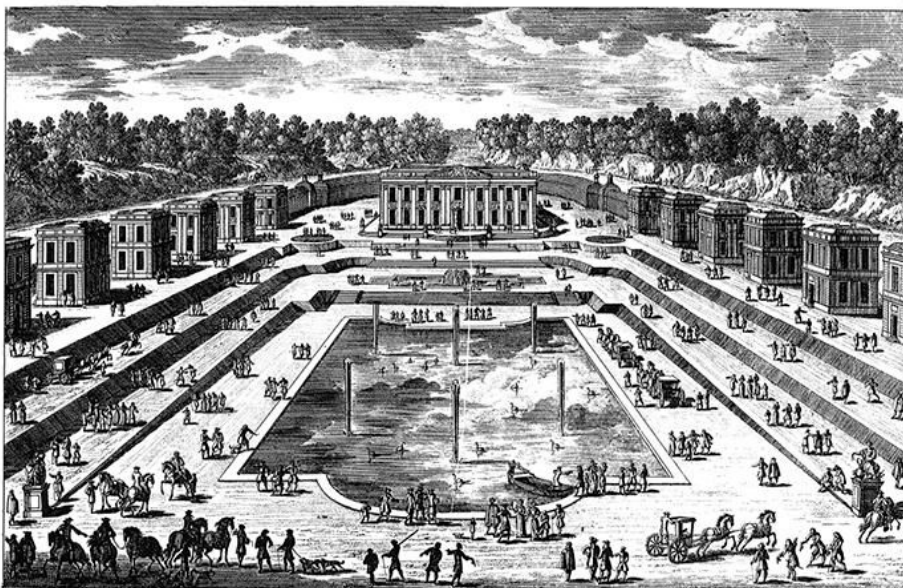


Fig. 5 - Adam Pèrelle, « Le château de Marly du côté des Jardins », 1683-1684, gravure. Collection particulière.



Fig. 6, 7 et 8 - Clichés photographiques des latrines de l'appartement du roi du Pavillon royal du Château de Marly lors des prélèvements (© Philippe Charlier).

1.1.4 Latrines des tranchées de la Grande Guerre

Dans les tranchées, les soldats souffraient de troubles intestinaux importants engendrés par divers facteurs ; le manque de ravitaillement en nourriture et en eau, la consommation de viandes froides et de boîtes de conserve, l'humidité, le manque d'hygiène corporelle, la présence de nuisibles (poux, mouches, moustiques, rats), la pratique ennemie de jeter des cadavres dans les puits²⁰³, etc. Ces conditions offrent un environnement sanitaire précaire intensifié par la proximité. De lourdes pathologies endémiques apparaissent tels que des fièvres (fièvre typhoïde, typhus ou paludisme), la dysenterie, la tuberculose, des troubles respiratoires, de graves carences, des infections buccales, des gelures, des héméralopies*, des mycoses, des rhumatismes, des néphrites, des constipations, des diarrhées cholériformes (*E. Coli, proteus, salmonella...*) voire à la mort.

Des engorgements de cadavres et de blessés graves dans les postes de secours, engendrés par l'impossibilité d'évacuer en pleine journée ou lors de l'intensification des combats, augmentent la précarité sanitaire au sein même des équipes médicales²⁰⁴. Les médecins et pharmaciens militaires devaient alors intervenir dans l'urgence avec des moyens sommaires ;

- la constipation était traitée avec différentes plantes telles que la badiane, les semences de *psyllium agar agar* (gélose), le pissenlit, les grains purgatifs de Vals ou le cresson de terre,
- les plaies pansées avec des injections de sérum antitétanique,
- on donnait aux blessés du gaz Ozone^{*205},
- injection de morphine pour les troubles traumatiques mentaux,
- les pieds étaient soignés avec des bains savonneux et l'absorption d'une mixture salicylée et opiacée, ou un vernissage de Chalier (à base de paraffine fondue novocaïnée),
- les poux étaient traités avec du vinaigre²⁰⁶,

²⁰³ DEDET J.P. *La microbiologie, de ses origines aux maladies émergentes*. Paris, Dunod, 2007.

²⁰⁴ BAZOT M. Des médecins dans la Grande Guerre. Le courage et la peur. *Médecine et armées* 2015 ; 44(1) : 5-10.

²⁰⁵ KAUL R., ANGRISH P., JAIN P., SINGH SASAN N. Ozone Therapy- A Paradigm Shift in Dentistry. *International Journal of Health Sciences & Research* 2015 ; 5(5) : 410-415.

²⁰⁶ Dossier de presse, *A l'est du nouveau ! Archéologie de la Grande Guerre en Alsace et en Lorraine*. Musée archéologique de Strasbourg, 25 octobre 2013/31 décembre 2014.

- le traitement des crampes musculaires et du paludisme avec le sulfate de quinine,
- pour le reste seuls le repos, des bains chauds et le traitement général des poux étaient effectués²⁰⁷.

Les latrines de guerre, aussi appelées feuillées, dont l'implantation est dirigée par les autorités militaires²⁰⁸, se distinguent des fosses d'aisances des sites antérieurs par leur caractère non maçonné. Elles étaient directement creusées dans le sol et pouvaient être renforcées de planches consolidatrices. Ces installations se définissent par un manque d'hygiène qui favorise la constipation²⁰⁹ et révèlent la présence de parasites intestinaux caractéristiques des périodes anciennes, des contextes de guerre et d'extrême pauvreté.

1.1.4.1 *Isles-sur-Suippe (ISS) « Sohettes et Val des Bois », Warmeriville*

Deux vestiges latrinaires de la Grande Guerre, situées sur les lignes arrière du front allemand, ont été mis au jour lors des fouilles archéologiques en 2015. Seules ces latrines traduisent l'occupation de la Grande Guerre, dans l'emprise d'une occupation de la période gallo-romaine (Annexe 7).

Il s'agit de deux latrines (La81 et La82), de formes quadrangulaires (0,70 m de large pour 1,40 m de long en moyenne avec 0,65 m de profondeur). Les profils présentent des parois verticales à fond plat (Fig. 9 et 10, Annexes 8 et 9). Les matières fécales sont situées sur les 10 premiers centimètres au fond (US201 et US205).

Un prélèvement sur le fond de chaque fosse a été effectué pour analyse parasitologique. Ces deux échantillons, renommés ISS1 et ISS2, présentent un aspect sédimentaire, humide et de couleur foncée (Annexe 10) qui se distingue du substrat.

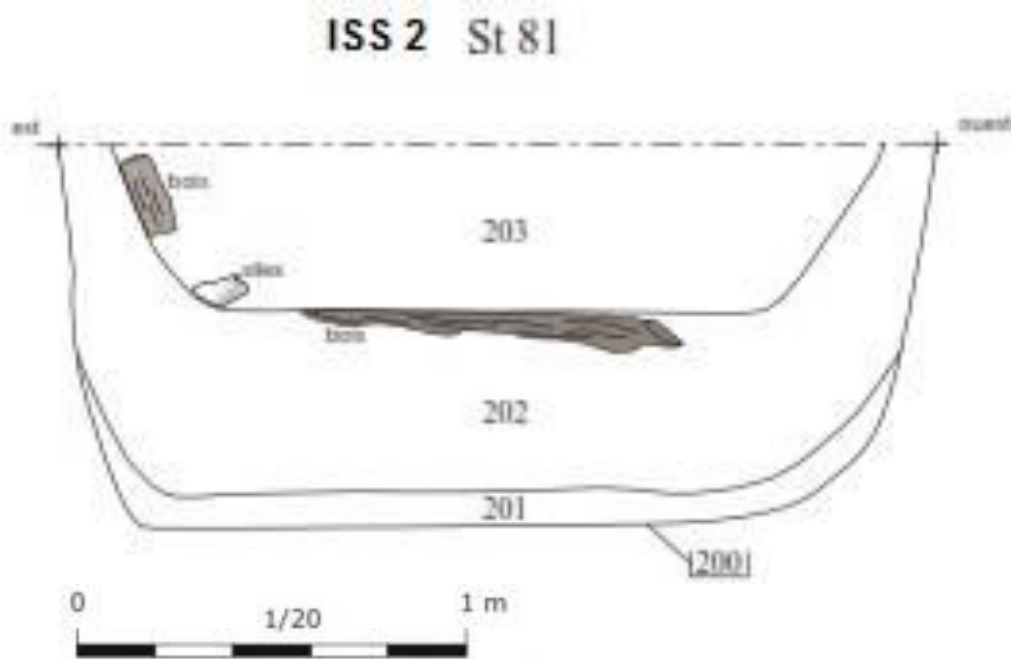
²⁰⁷ FARRET O. La pathologie des tranchées. *Médecine et armées* 2015 ; 44(1) : 24-29.

²⁰⁸ Dossier de presse, *A l'est du nouveau ! Archéologie de la Grande Guerre en Alsace et en Lorraine*. Musée archéologique de Strasbourg, 25 octobre 2013/31 décembre 2014.

²⁰⁹ FARRET O. La pathologie des tranchées. *Médecine et armées* 2015 ; 44(1) : 24-29.



Fig. 9 - Cliché photographique des latrines de la Grande Guerre (ISS2), Isles-sur-Suipe « Sohettes et Val des Bois », Warmeriville (© Yoann Rabasté).



Isles-sur-Suipe "Sohettes et Val des bois"
 N° inrap : F035637-1E
 Secteur Nord (3)
 Min.6
 Ech : 1-20e
 Noms: YR

Fig. 10 - Coupe stratigraphique des latrines de la Grande Guerre (ISS2), Isles-sur-Suipe « Sohettes et Val des Bois », Warmeriville (© Yoann Rabasté).

1.1.4.2 *Le Bonnet de Coton (LBC), Forêt d'Argonne*

L'échantillon est issu du site « Le Bonnet de Coton » de Sevron -Melzicourt (51) dans la Forêt d'Argonne. La fouille a révélé très peu de mobilier : quelques restes de boîtes de conserve, quelques bouteilles de vin, des restes d'un pot au feu (os à moelle de bœuf), et une grande quantité de boutons de culottes/pantalons.

Le prélèvement latrinaire a été réalisé au fond d'une petite fosse d'aisance de tranchée française sur la ligne du front (Fig. 11 et Annexe 11), ayant fonctionnée de 1915 à 1918. Ces latrines ont vraisemblablement été vidangées très régulièrement, le sédiment extrait est alors un témoignage de la dernière période d'utilisation de la guerre, voire de la dernière semaine de la guerre sur le site, soit en octobre 1918.

De plus, des régiments américains, et plus particulièrement le 368^e régiment d'infanterie, constitué d'afro-américains, ont stationné dans la zone durant cette période. L'échantillon, prélevé dans ce terrain composé d'argiles et de sables quartzeux, renommé SER, présente un aspect sec et une couleur très pâle (Annexe 12).

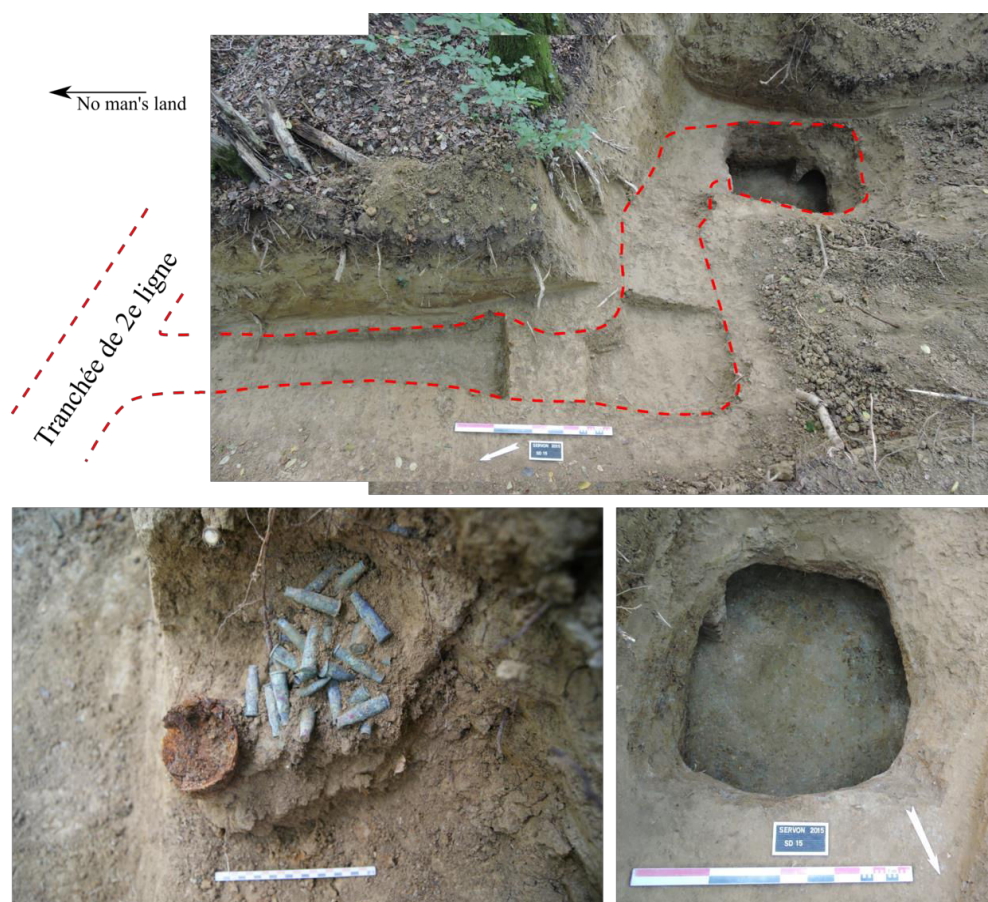


Fig. 11 - Clichés photographiques des latrines (SER) du site LBC, Forêt d'Argonne (©Jérôme Brenot).

1.1.4.3 « Le bas de la Noue St Rémi », Cernay-lès-Reims

Il s'agit de plusieurs latrines (Annexes 13 et 14), implantées le long des lignes de front françaises. Elles sont situées entre 0,50 et 1,50 m de profondeur selon les structures, de formes quadrangulaires de 1,20 m de côté en moyenne, et présentent un profil aux parois verticales à fond plat (Figure 12 et Annexes 15 à 22). Les prélèvements ont tous été réalisés dans le premier niveau de comblement, couches fécales, au fond des structures. Ces échantillons se caractérisent par leur aspect sédimentaire sec de couleur pâle (Annexes 23) scindés en deux secteurs;

- Secteur 5 : 3 latrines ont été fouillées et ont bénéficiées d'un prélèvement (La1053, 1056 et 1059) respectivement renommées CLR4, CLR7 à CLR9.
- Secteur 9 : 5 fosses latrinaires ont été fouillées et ont bénéficié d'un prélèvement (La2672, 2534, 2671, 2670 et 2549), renommées respectivement CLR1 à CLR3, CLR5 et CLR6.



Fig. 12 - Coupe stratigraphique des latrines de la Grande Guerre, « Le bas de la Noue St Rémi », Cernay-lès-Reims CLR1 secteur 9 FT2672 US130 (© Yoann Rabasté).

1.1.5 Camp de prisonniers allemands, Stenay "les groseilliers" (Meuse)

Ce camp de prisonniers allemands de la seconde guerre mondiale a accueilli environ 20.000 prisonniers et est doté de plusieurs latrines (Fig. 13). Les 9 échantillons prélevés dans une des fosses d'aisance, renommés STE 1 à 9, présentent un aspect encore humide, une couleur foncée et conserve une forte odeur (Annexe 24).

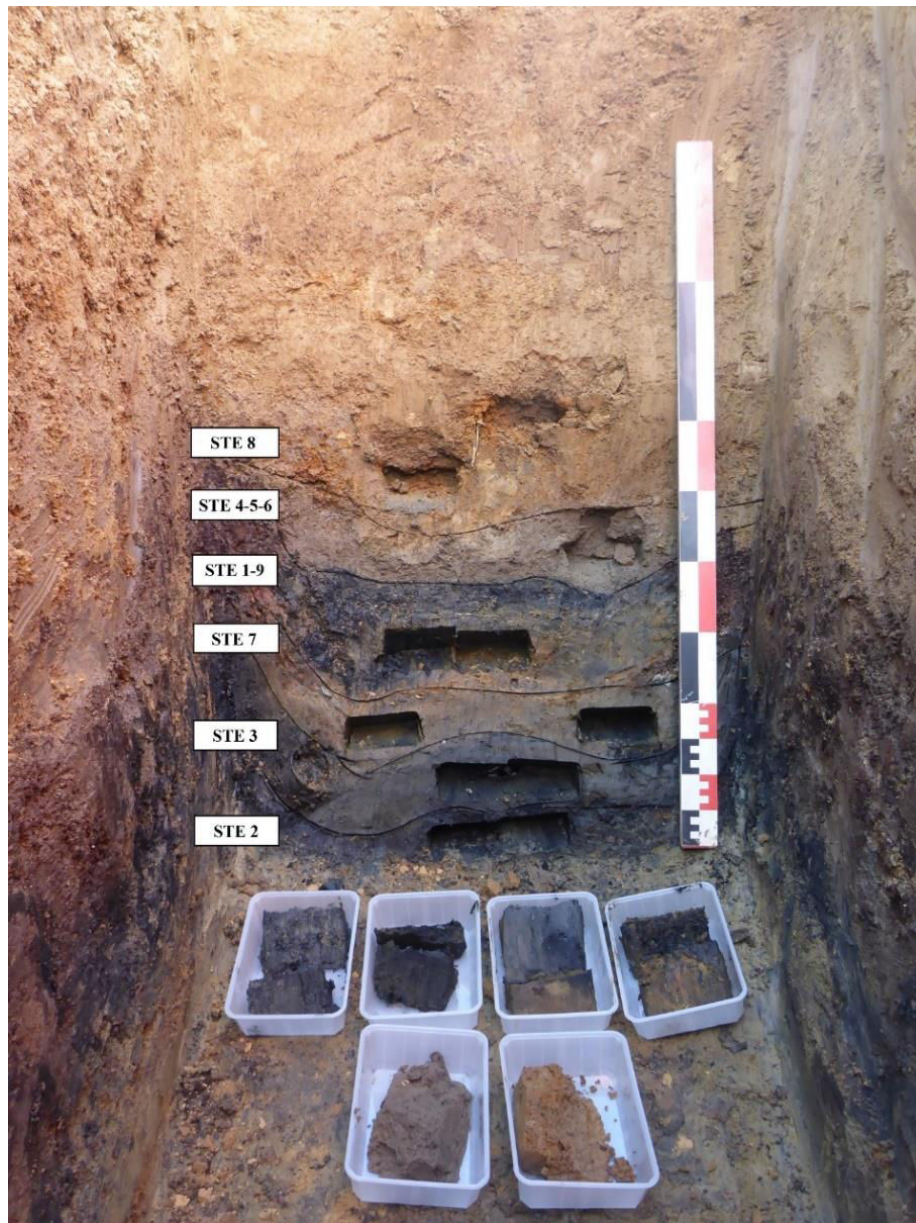


Fig. 13 - Clichés photographiques des latrines du camp de prisonniers allemands et de la localisation des prélèvements (STE) de 1945-1946 (© Frédéric Adam).

1.1.6 Latrines actuelles, Beauce (2016)

Cet échantillon contemporain provient de latrines sèches d'une habitation particulière, située dans le village de Gaubert, dans la région de la Beauce.

Hormis ce prélèvement contemporain, les échantillons étudiés représentent des contextes similaires : un accès limité à l'eau potable et une hygiène précaire. Toutefois, le cadre social, physique et psychologique, la médication et certains aspects de l'alimentation comme les conserves diffèrent.

C'est ainsi un corpus de quarante-deux échantillons issus des huit sites (Fig. 14) :

<i>Sites</i>	<i>Lieu</i>	<i>Datation</i>	<i>Nb éch.</i>	<i>N° origine</i>	<i>N° éch.</i>
<i>Habitation II E J</i>	Délos, Grèce	II- I ^e s. av. J.-C.	1	-	DEL
<i>Maison-forte de Chambly</i>	Chambly	XII ^e -XIII ^e s.	11	PRE 34-35-36-47-49-51-53-55-57-59-61	C 34-35-36-47-49-51-53-55-57-59-61
<i>Château de Marly</i>	Marly	XVIII ^e s.	8	P 20-21-22-23-24-25-26-27	M 20-21-22-23-24-25-26-27
<i>Tranchées françaises</i>	Warmeriville	1914-1918	2	La 82 - 81	ISS 1-2
<i>Tranchées françaises</i>	Le Bonnet Coton (LBC)	1914-1918	1	Structure SD15	SER
<i>Tranchées françaises</i>	Cernay-lès-Reims	1914-1918	9	CLR2016	CLR 1-2-3-4-5-6-7-8-9
<i>Camps de prisonniers allemands</i>	Stenay	1945-1946	9	Structure 42 - 62 - 59	STE 1-2-3-4-5-6-7-8-9
<i>Latrines sèches</i>	Beauce	2016	1	-	BOS

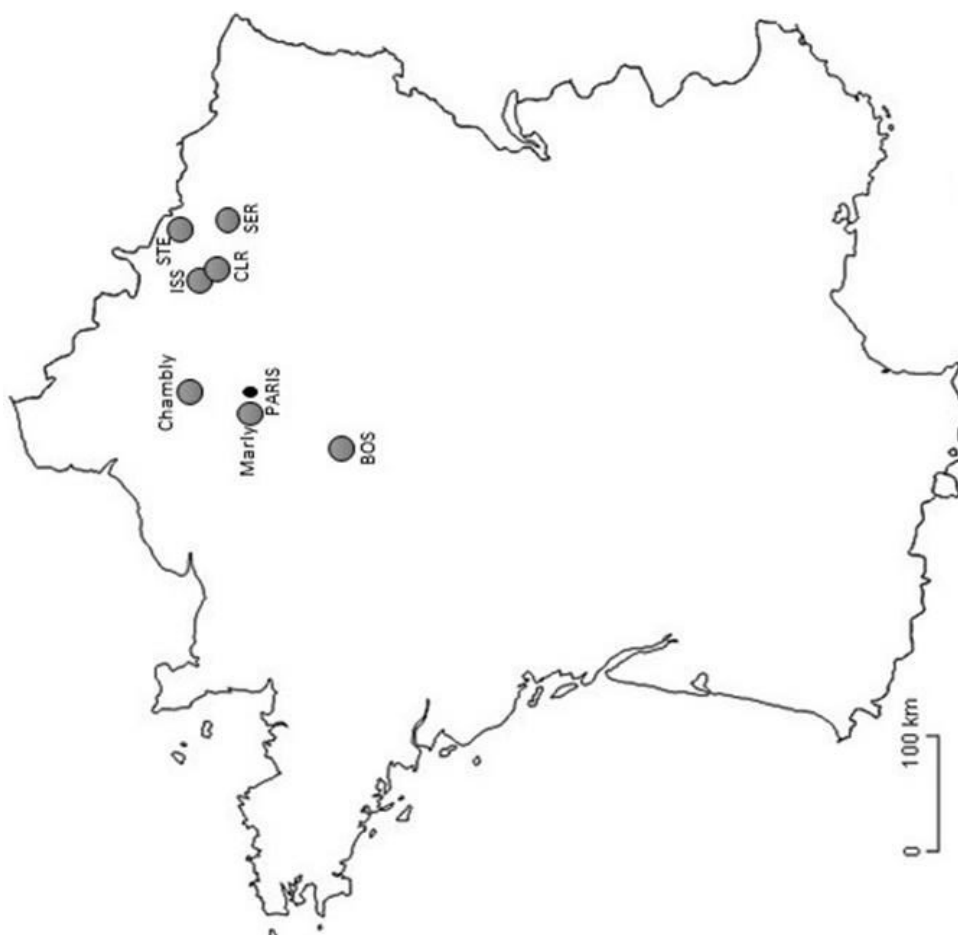


Fig. 14 - Répartition et description des sites (©Anaïs Augias)

1.1 Manipulations et protocoles microbiologiques

1.2.1 pH

La mesure du pH des selles permet un examen fonctionnel rétrospectif. Celui-ci varie dans le gros intestin entre 5.5 au niveau proximal et 7 au niveau distal²¹⁰. Les selles sont majoritairement composées d'eau, de déchets indigestibles, de fibres, de lipides, d'acides gras et de bactéries^{211,212}. La mesure normale du pH des selles est inférieure à 5.3. L'acidité traduit alors une non-absorption ou une non-dégradation des glucides menant à leur fermentation/putréfaction dans l'intestin grêle. Le métabolisme bactérien de ces glucides engendre alors une augmentation des acides gras volatiles²¹³ et mener à qu'on appelle un intestin irritable. Bien que le temps écoulé depuis le dépôt ait influencé le pH, ce dernier peut indiquer une éventuelle contamination du sédiment.

La mesure des quarante-deux échantillons latrinaires est faite à partir d'un papier pH 1-11.

1.2.2 Analyses élémentaires/toxicologiques

Les analyses toxicologiques ont été effectuées dans le département de toxicologie biologique du CHU Lariboisière, sous la responsabilité de Joël Poupon.

L'objectif de ces analyses est la mise en évidence de métaux lourds autrefois utilisés comme traitements contre les maladies infectieuses, pouvant jouer un rôle clé dans le processus d'évolution du microbiome.

Pour réaliser cette étude, les quarante-deux échantillons latrinaires ont été déposés sur des cupules afin d'être séchés au four entre trente minutes, pour les échantillons les plus secs,

²¹⁰ MOSONI P. Dégradation des fibres alimentaires par le microbiote colique de l'Homme. *Innovations Agronomiques* 2014 ; 36 : 83-96.

²¹¹ SAUTIER C. Coprologie fonctionnelle. *Encycl Med Chir (Estomac-Intestin)* 1988 ; 9010 : A 10.

²¹² GOBERT J.G., BARBOT L., KAPEL N. Élément de physiopathologie digestive et coprologie fonctionnelle. *Ann. Pharm. Fr.* 2004 ; 62 : 367-370.

²¹³ EHERER A.J., FORDTRAN J.S. Fecal osmotic gap and pH in experimental diarrhea of various causes. *Gastroenterology* 1992 ; 103 : 545-51.

et une heure trente, pour les échantillons les plus humides. Une fois secs, les échantillons sont pesés afin de déterminer le volume d'acide nitrique (HNO₃) et de H₂O à ajouter :

$$\begin{aligned}\text{Volume HNO}_3 &= \frac{\text{Poids}}{500} \\ \text{Total} &= \text{vol. HNO}_3 \times 10 \\ \text{Volume H}_2\text{O} &= \text{total} - \text{vol. HNO}_3\end{aligned}$$

Certaines valeurs peuvent être modifiées selon l'aspect des échantillons après ajout du HNO₃. Compte tenu de l'aspect encore solide, après ajout d'HNO₃, de certains échantillons, il a été décidé de doubler le volume de cet acide ; modifiant ainsi le volume d'eau et le volume total (c'est le cas pour une grande majorité des échantillons). L'acide nitrique (HNO₃) est donc ajouté en premier ; la présence de calcaire dans les échantillons, et plus précisément de nitrate de calcium (Ca(NO₃)₂), provoque une forte émulsion au contact de l'acide. Une phase de chauffe à 95°C est effectuée avant d'ajouter l'eau. Après ajout de l'eau et huit minutes de centrifugation, le surnageant est prélevé ; au 10^e, au 15^e ou au 20^e suivant la concentration.

Afin d'avoir une vue d'ensemble, un screening par ICP-MS est réalisé.

1.2.3 Examen de microscopie optique et MEB

La microscopie optique est réalisée au sein de l'équipe d'Anthropologie Médicale et Médico-Légale de l'Université de Versailles-Saint-Quentin (UVSQ), sous la responsabilité de Philippe Charlier. Le protocole choisi est celui appliqué aux examens microscopiques directs des selles. Elle consiste au placement entre lames et lamelles d'une portion fine d'échantillon et de chlorure de sodium.

Un examen complémentaire au microscope électronique à balayage (MEB) est réalisé, dans le laboratoire de Physique des Solides de l'Université Paris-Sud XI par Raphaël Weil, avec l'outil SUPRS 55VD Zeiss, Gemini-Bruker Detector, grandissement x2130.

1.2.4 Extraction ADN

Les extractions ADN ont été effectuées dans l'UMR Eco-anthropologie et Ethnobiologie, Département Hommes, Natures et Sociétés, du MNHN, et plus précisément sur le plateau technique Paléogénomique et génétique moléculaire du Musée de l'Homme, sous la responsabilité de Céline Bon et Laure Ségurel.

La méthode d'extraction de l'ADN est basée sur l'attrait de l'ADN pour la silice dans des tampons très concentrés en sel. L'échantillon fécal latrinaire est réhydraté et solubilisé dans un tampon de lyse afin de faire éclater les cellules. Après centrifugation, le surnageant est mélangé à un tampon riche en sels de guanidine, puis déposé sur une colonne contenant des billes de silice. L'ADN adhère aux billes de silice et la colonne est lavée par des tampons riches en guanidine et en éthanol. Enfin, l'ADN est élué dans 100 µl de tampon d'éluion, pauvre en sels. Les échantillons les plus anciens (Délès, la maison-forte de Chambly et le château de Marly) ont été traités en salle blanche en contexte stérile, afin d'éviter une contamination avec de l'ADN moderne ambiant (présent en faible quantité dans l'environnement de travail).

Dans le but de déterminer le protocole le plus adapté aux échantillons latrinaires, trois kits d'extraction ADN ont été utilisés, sur des échantillons de 0.25g à 0.35g :

- MoBio PowerFecal ADN Isolation Kit
- Macherey-Nagel Soil ADN Isolation Kit
- MoBio PowerSoil ADN Isolation Kit

Plus précisément, le protocole d'extraction ADN, à partir de matière fécale²¹⁴ ou de sédiment^{215,216}, implique plusieurs étapes et solutions permettant l'homogénéisation et la lyse (désintégration) des cellules :

²¹⁴ MoBio PowerFecal ADN Isolation Kit Protocol [En ligne]

<https://mobio.com/media/wysiwyg/pdfs/protocols/12830.pdf>, consulté le 26.10.2016.

²¹⁵ Macherey-Nagel Soil ADN Isolation Kit Protocol [En ligne] [http://www.mn-](http://www.mn-net.com/Portals8/attachments/Redakteure_Bio/Protocols/Genomic%20DNA/UM_gDNASoil.pdf)

[net.com/Portals8/attachments/Redakteure_Bio/Protocols/Genomic%20DNA/UM_gDNASoil.pdf](http://www.mn-net.com/Portals8/attachments/Redakteure_Bio/Protocols/Genomic%20DNA/UM_gDNASoil.pdf), consulté le 26.10.2016.

²¹⁶ MoBio PowerSoil ADN Isolation Kit Protocol [En ligne]

<https://mobio.com/media/wysiwyg/pdfs/protocols/12888.pdf>, consulté le 26.10.2016.

L'échantillon est, dans un premier temps, déposé dans le tube contenant des billes, lesquelles, ajoutées à une première solution nommée *Bead Solution* pour le kit MoBio PowerFecal, aideront à la dissolution et à la dispersion des particules d'échantillon.

La solution 1 va permettre la lyse des cellules grâce à des agents perturbateurs/de rupture et au détergent anionique SDS, lequel décompose les acides gras et les lipides associés à la membrane cellulaire de plusieurs organismes.

Après une première phase de vortex et de centrifugation, le surnageant est transféré dans un nouveau tube. Une teinte sombre et quelques particules sédimentaires peuvent persister dans le surnageant, ce qui est le cas pour les quatre premiers échantillons du camp de prisonniers allemands de Stenay "les groseilliers" dans la Meuse.

Les solutions 2 et 3 sont des réactifs qui précipitent des inhibiteurs (des matières organiques et inorganiques), comprenant des substances/acides humiques, des débris cellulaires, des protéines et des polysaccharides pouvant contaminer l'ADN. Après centrifugation, ces inhibiteurs forment un culot et le surnageant est transféré dans un nouveau tube.

La solution 4 a une haute concentration en sel, ce qui favorise la liaison de l'ADN. En effet, l'ADN se lie étroitement à la membrane de silice dans la solution à haute teneur en sel. Le surnageant est transféré dans un tube composé d'une membrane de silice filtrante qui ne conserve que l'ADN lié à la membrane, et élue les contaminants (qui sont alors éliminés).

La solution 5 est une solution de lavage qui permet de nettoyer la colonne des derniers contaminants. Riche en éthanol, cette solution va ensuite être éliminée par centrifugation afin de ne pas interférer sur les prochaines manipulations telles que la PCR ou la mise en gel. Le filtre, contenant l'ADN lié à la membrane de silice, est transféré dans un tube propre.

La solution 6 est un tampon d'élution stérile peu concentré qui permet la libération de l'ADN. La membrane de silice est jetée pour ne conserver que l'extrait dans lequel l'ADN a été libéré. L'éluat final est ensuite congelé jusqu'à la prochaine étape, la PCR.

Soixante-dix-huit extractions ont ainsi été pratiquées.

Des blancs sont effectués en parallèle afin de certifier de la non-contamination lors des manipulations ; il s'agit d'extractions ne contenant pas d'échantillons, pour les prélèvements anciens, et de la solution 6, pour les prélèvements récents.

Afin de déterminer le rendement, avant congélation, l'ADN extrait est passé au spectrophotomètre UV-VIS Thermo Scientific NanoDrop, lequel va mesurer la concentration et la pureté des échantillons.

A la lecture des résultats, le ratio A260/A280 estime la pureté de l'acide nucléique et un pic à 260nm est alors typique d'un ADN pur. Un ADN pur se situe à un ratio entre 1,8 et 1,9 ; un rapport inférieur ou supérieur à ces valeurs indique respectivement une contamination par des protéines ou par l'ARN. Toutefois, ces inhibiteurs peuvent se compenser et indiquer un bon ratio A260/A280. Ainsi, pour s'assurer de la fiabilité de ce rendement, il s'agira également d'observer le ratio A260/A230, lequel doit être compris entre 1,5 et 2,2 pour un ADN acceptable à pur. En-dessous de ces rapports, l'échantillon pourrait être pollué et la concentration d'ADN faussée et revue à la baisse. L'absorption à 230 nm exprime ainsi la contamination de l'extrait par d'éventuels hydrates de carbone, peptides, phénols, acides humiques, protéines, saccharides ou composés aromatiques.

Afin d'assurer le succès de la manipulation suivante, à savoir l'amplification du gène 16S de la région V4, la concentration finale d'ADN demandée pour le séquençage est de 4 ng/μl pour un volume final de 20ng/μl. Ainsi, seuls les échantillons dont les mesures spectrométriques sont égales ou supérieures à 4 ng/μl sont envoyés à la PCR.

1.2.5 La réaction en chaîne par polymérase (PCR)

L'analyse taxonomique est effectuée sur une séquence cible considérée comme « universelle » car présente chez tous les procaryotes, la région V4 de l'ARNr 16S. En effet, cette séquence permet la distinction et l'identification d'espèces procaryotes (c'est-à-dire bactéries et archéobactéries). Cette région est amplifiée par PCR, en utilisant des amorces conservées entre taxons, ciblant cette région, puis séquencée sur séquenceur MiSeq. En effet, par sa résolution taxonomique élevée, la région V4 de l'ARN 16S ribosomique (ARNr) permet la détermination des espèces présentes et l'étude taxonomique des échantillons. Une PCR de courte taille est réalisée pour maximiser les chances d'obtenir des amplifications à partir d'échantillons anciens dégradés.

Compte tenu de l'ancienneté des échantillons, la PCR est également entreprise dans le plateau technique Paléogénomique et génétique moléculaire du Département Hommes, Natures et Sociétés du Musée de l'Homme.

Par des dilutions, plusieurs cycles de chauffe et l'utilisation d'amorces universelles (appelées *Primers*), en l'occurrence les amorces U341 et U529R, l'ADN va successivement

subir une dénaturation, une hybridation, une élongation puis une extension, c'est-à-dire que les brins d'ADN vont être séparés afin d'être copiés, dupliqués puis reliés.

La première étape est alors la dilution de l'ADN avec du H₂O afin d'aboutir à une concentration de 4 ng/μl. Le volume d'eau et d'ADN à ajouter est calculé selon la concentration initiale :

$$\text{Volume ADN à ajouter} = \frac{\text{Concentration finale (4ng/}\mu\text{l)} \times \text{Volume final (20ng/}\mu\text{l)}}{\text{Concentration initiale (mesure spectrométrique)}}$$

$$\text{Volume H}_2\text{O à ajouter} = \text{Volume final (20ng/}\mu\text{l)} - \text{Volume initial}$$

L'étape finale consiste à rassembler 2,5ng/μl de l'éluât précédemment dilué à 1,25ng/μl de chaque amorce (U341 et U529R) et à 7,5ng/μl d'H₂O.

A l'instar de la phase d'extraction ADN, les dilutions ont été réalisées en salle blanche, pour les échantillons anciens.

Après un premier temps de dénaturation à 98°C (30 sec) pour activer l'enzyme, 25 cycles comprenant une étape de dénaturation à 98°C (5 sec), une étape d'hybridation à 54°C (20 sec), et d'élongation à 72°C (15 sec) sont effectués. Enfin, une étape d'élongation finale à 72°C (2 sec) puis de conservation à 20°C (30 sec) termine cette PCR.

Une fois ces premières manipulations terminées, un contrôle par électrophorèse sur gel d'agarose est effectué afin de vérifier la présence et la taille des acides nucléiques ; du *Gel Red* ajouté à une faible quantité d'ADN extrait va alors révéler ces acides nucléiques.

Cette PCR a ainsi copié et amplifié la portion V4 du gène ARNr 16S pour les différentes espèces de bactéries présentes dans l'extrait.

1.2.6 Séquençage métagénomique

Ces amplicons sont ensuite transférés à Sean Kennedy, au Département de génomes et génétique de l'Institut Pasteur, pour bénéficier d'une seconde étape d'amplification, d'un

séquençage par synthèse (SBS) de nouvelle génération (NGS), par le biais du kit *TruSeq Library* et de la plateforme *Illumina MiSeq* et d'une première analyse bio-informatique.

Avant le séquençage proprement dit, une première opération vise à transformer l'extrait en ARN complet/ADNc synthétisant le simple brin d'ADN codant en purifiant et en enrichissant en PCR les ARNm afin de créer une bibliothèque de séquençage. Par divers temps de chauffe, d'incubation et d'ajouts de solutions, l'extrait va être successivement être²¹⁷ :

- purifié,
- des adaptateurs sont fixés aux extrémités de ces fragments,
- dénaturé,
- chaque brin d'ADN est ensuite lié à un *primer* universel attaché à la plateforme de séquençage; chaque extrémité est alors reliée à une amorce elle-même fixée au support, formant ainsi un pont,
- le brin complémentaire est synthétisé pour reconstituer un ADN double-brin.

La répétition de cette opération mène au regroupement du même fragment d'ADN, créant ainsi une bibliothèque de fragments. Dans ce processus de synthèse, un nucléotide marqué par une étiquette fluorescente est introduit puis mesuré.

Après deux étapes de PCR, les molécules de toutes les bactéries sont disponibles. Les étapes suivantes visent à ôter les précédentes amorces, à ajouter les amorces compatibles au séquenceur *MiSeq* puis à introduire un barcode permettant de coder chaque échantillon afin de pouvoir tous les charger dans un seul tube à partir du kit *TruSeq Library* et de les séquencer en une fois. Le séquenceur *MiSeq* délivre deux lectures (avancée et inversée) par échantillon. À la sortie du séquenceur, les échantillons sont triés selon le barcode et deux lectures sont disponibles par échantillon. Cette étape va permettre de déterminer l'ordre d'enchaînement des nucléotides composant une séquence d'ADN et donc l'identification de sa population microbienne.

Afin de pouvoir comparer les échantillons entre eux, les données font l'objet d'une normalisation²¹⁸, grâce à l'équation suivante :

²¹⁷ SHENDURE J., LIEBERMAN AIDEN E. The expanding scope of DNA sequencing. *Nature Biotech.* 2012 ; 30(11) : 1084-1094.

²¹⁸ DILLIES M.A. *et al.* A comprehensive evaluation of normalization methods for Illumina high-throughput RNA sequencing data analysis. *Briefings in Bioinformatics* 2012 : 1-13.

$$\hat{s}_j = \text{median}_i \frac{X_{ij}}{(\prod_{v=1}^n X_{iv})^{1/n}}$$

X_{ij} : nombre de lectures mappées d'OTU* (i) dans l'échantillon (j)

n : le nombre d'échantillons

Dans une dernière étape, les adaptateurs ainsi que les bases de faible qualité (<20) ont été levés par le biais d'*AlienTrimmer*²¹⁹.

1.2.7 Outil bio-informatique

Dans un premier temps, il est important de déterminer le protocole d'extraction ADN le plus adapté en jugeant la qualité de l'échantillon et de sa méthode d'extraction. L'analyse bio-informatique a été réalisée avec le logiciel SHAMAN*, intégrant le filtrage des données, l'identification des lectures OTU (*Operational Taxonomic Units*) grâce aux bases de données *Silva*, RDB et *Greengenes* et à l'analyse statistique (Fig. 15). Ce logiciel peut identifier les genres différentiels abondants sur différents échantillonnage et sites d'échantillonnage. Il s'agit de regarder si, entre méthodes, il y a des différences du nombre de lectures de séquençage obtenues, du nombre de lectures qui correspondent à des séquences déjà connues (annotation grâce à la base de données RDP), et si la composition bactérienne est influencée par la méthode d'extraction. Par le biais de ce traitement des données, il est possible de comparer les kits d'extraction, les extractions et les sites entre eux par le biais de différents formats de comparaison (PCoA*, indices de diversité et de raréfaction, barplot, etc.).

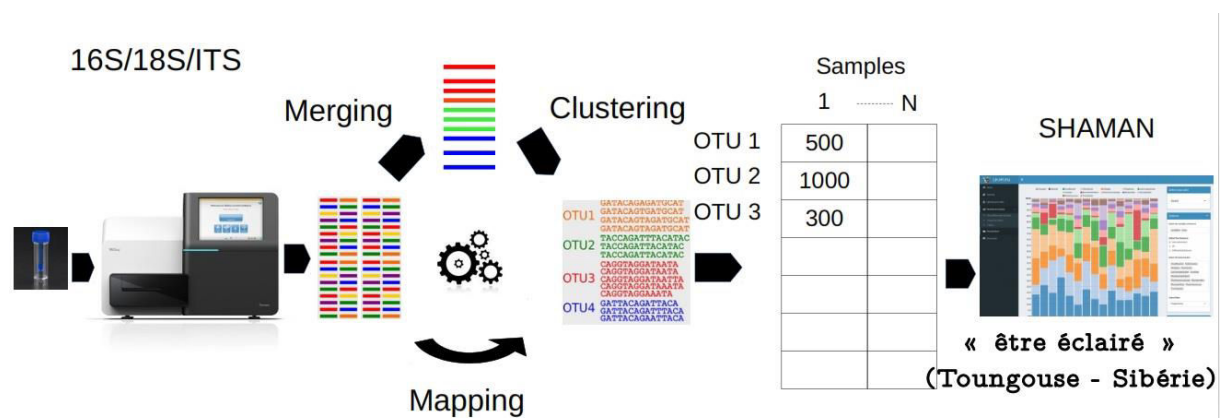


Fig. 15 - Schéma des étapes de séquençage et d'analyses bio-informatique via SHAMAN (© Institut Pasteur).

²¹⁹ CRISCUOLO A., BRISSE S. AlienTrimmer : a tool to quickly and accurately trim off multiple short contaminant sequences from high-throughput sequencing reads. *Genomics*, 2013 ; 102 : 500–506.

Pour juger la qualité des résultats taxonomiques engendrés par le séquençage, une analyse bio-informatique supplémentaire est mise en place, réalisée par Romain Laurent (MNHN)²²⁰. Après identification de la répartition des longueurs de lectures, il s'agit, dans un premier temps, d'analyser les séquences d'ARN (QC) de manière suivante :

- le filtrage et donc la suppression des lectures inférieures à 100 paires de base (pb) pour ne lire que les supérieures à 210 pb via *cutadapt*²²¹. Une conservation différentielle des lectures avancées ou inverses peut se produire, le script *Python* a donc été utilisé pour conserver les deux lectures.
- la distinction entre les lectures correspondant à la contamination par l'ADN humain ou par l'ADN de l'entérobactériophage phiX174 (qui est le premier ADN à base de génome) en utilisant *Bowtie2*²²² et les bases de données génomiques référentielles pour *Homo sapiens* et phiX174 du *National Center for Biotechnology information* (NCBI).
- la fusion des lectures appariées (*Flash*²²³ : paramètres par défaut et chevauchement maximal 200bp).

S'en suit un processus de sélection OTU *de novo* (pipeline FROGS²²⁴ engendrant un algorithme d'essaim²²⁵) visant successivement à la suppression des lectures contenant N, à la recherche de séquences uniques, à la création de *clusters* (OTU distance 1), à la suppression de chimères et des *clusters* rares (<0.00001) puis l'affiliation des OTU par le biais des bases de données *Silva*²²⁶ et *Greengenes*²²⁷.

²²⁰ D'après le rapport de LAURENT R. Report on latrine project. 19 Mai 2017.

²²¹ MARTIN M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet.journal* 2011 ; 17 : 10–12.

²²² LANGMEAD B., SALZBERG S.L. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature methods* 2012 ; 9 : 357–359.

²²³ MAGOC T., SALZBERG S.L. FLASH : fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics* 2011 ; 27 : 2957–2963.

²²⁴ ESCUDIÉ F., AUER L., BERNARD M., *et al.* FROGS : Find Rapidly OTU with Galaxy Solution. *The environmental genomic Conference*, Montpellier, France, 2015.

²²⁵ MAHÉ F., ROGNES T., QUINCE C., DE VARGAS C., DUNTHORN M. Swarm: robust and fast clustering method for amplicon-based studies. *PeerJ*, 2014 ; 2 : e593.

²²⁶ QUAST C., PRUESSE E., YILMAZ P. *et al.* The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research* 2013 ; 41 : 590–596.

²²⁷ DESANTIS T.Z., HUGENHOLTZ P., LARSEN N. *et al.* Greengenes, a chimerachecked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006 ; 72 : 5069–5072.

Les OTU de référence proviennent du pipeline QIIME en se servant des mêmes bases de données puis l'algorithme de suppression des OTU est USEARCH6.1.

Le séquenceur délivrant deux lectures par échantillons, il convient d'abord de fusionner ces dernières (en ajoutant les comptes d'abondance de chacune des deux lectures afin d'accroître la distinction des différences entre les échantillons). Puis, il est mis en place une normalisation multidimensionnelle (MDS) du *cluster* à partir de la mesure de distance *UniFrac*, pondérée (lesquelles ne tiennent pas compte de l'abondance) ou non²²⁸, tenant compte des distances phylogénétiques entre les taxons des divers échantillons ou des distances *Bray-Curtis*²²⁹.

Enfin, pour étudier plus amplement les potentielles différences microbiennes entre les différents échantillons latrinaires, une mise à l'échelle multidimensionnelle (MDS) ne ciblant que les OTU relatifs aux phylums *Bacteroides* et *Firmicutes* (les plus abondants dans le microbiote intestinal humain).

²²⁸ LOZUPONE C.A., HAMADY M., KELLEY S.T., KNIGHT R. Quantitative and qualitative β diversity measures lead to different insights into factors that structure microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology* 2007 ; 73 : 1576–1585.

²²⁹ BRAY J.R., CURTIS J.T. An ordination of the upland forest communities of Southern Wisconsin. *Ecological Monographs* 1957 ; 27 : 326–349.

CHAPITRE 2

FAECES VIVOS DOCENT

2.1 Résultats et discussion des analyses parasitologiques

L'ensemble des dépôts latrinaires présente un pH compris entre 7 et 9 (eau témoin = 7), soit un profil neutre à alcalin (Fig. 16). Il n'apparaît alors aucune acidité.

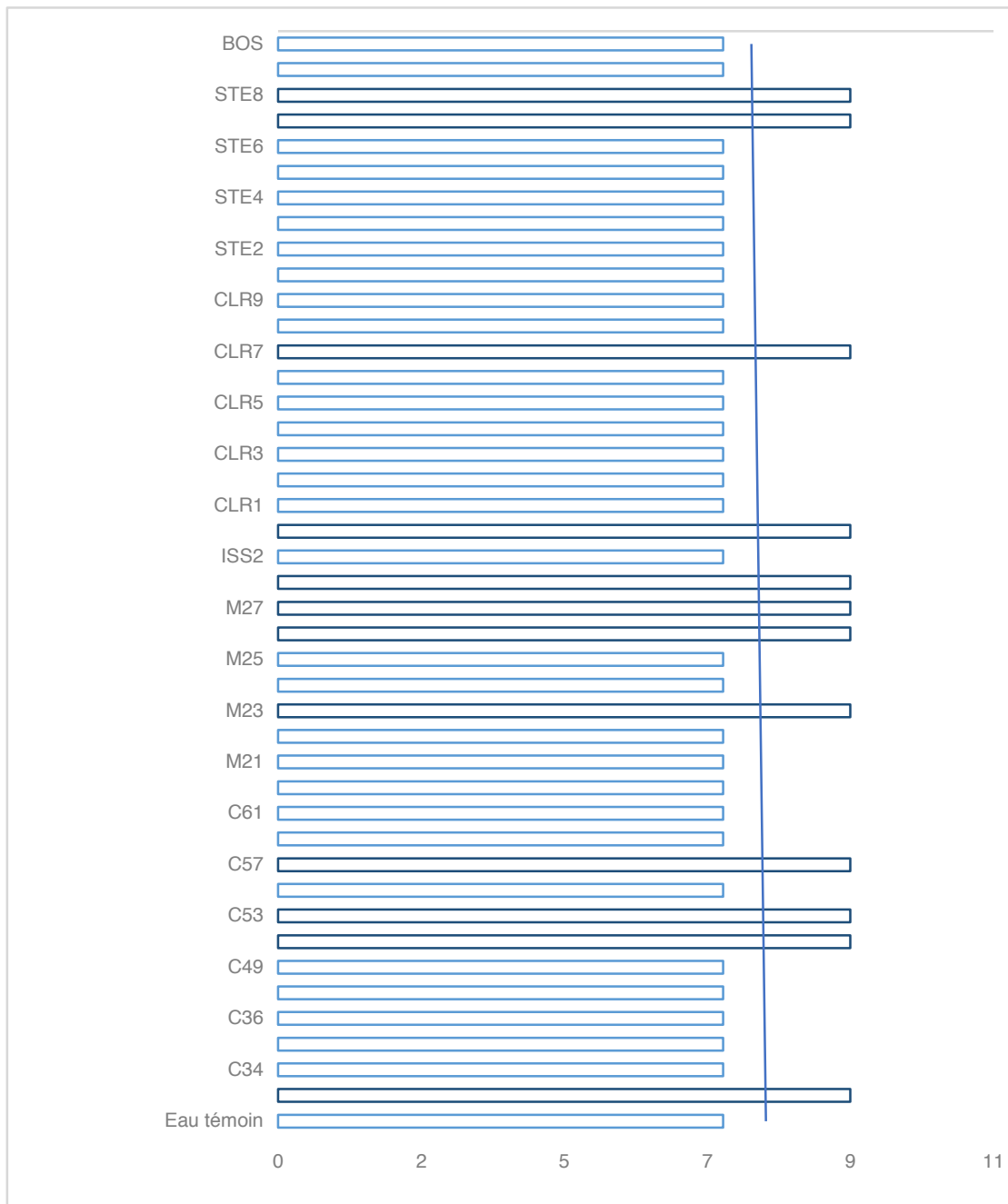


Fig. 16 - Mesures de pH des échantillons latrinaires anciens et modernes (© Anaïs Augias).

2.1.1 Microscopie optique et électronique à balayage (MEB)

A l'instar des premières études menées en 2007²³⁰, les latrines maçonnées du site de Délos ne révèlent aucune donnée relative aux parasites. Du fait de leur ancienneté, le sédiment s'est oxydé et n'a permis d'isoler ni parasite à la microscopie optique ni ADN.

Les latrines maçonnées des XII^e et XIV^e siècles de la Maison-forte de Chambly se caractérisent par une riche diversité de spores, pollens et parasites résultant de conditions d'hygiène précaires issues de la contamination de l'eau, du sol et des aliments. Il est toutefois, compliqué de distinguer des infections différentielles entre les couches stratigraphiques de l'époque seigneuriale (XII^e et XIII^e siècles) et celles de l'occupation militaro-équestre (XIII^e et XIV^e siècles) compte tenu des possibles mouvements telluriques de cet environnement encore en eau ayant pu déplacer les parasites. On note la présence d'œufs d'*Ascaris* (Fig. 17) dans les couches latrinaires et d'œufs de *Trichuris** dans les couches détritiques (Fig 18 et 19). En effet, compte tenu des moyens d'infection, les sujets infectés par des *Ascaris* le sont également par d'autres parasites, et notamment les œufs de *Trichuris*. L'ascaridiose et la trichocéphalose, non contagieuses, sont liées à de mauvaises conditions d'hygiène et, plus particulièrement, à la présence de matières fécales (humaines ou porcines) dans l'environnement (sol, aliments cultivés, eau, air dans des climats secs et venteux). On observe également, de manière uniforme, la présence de larves de *Rhabditis* (Fig. 20) dans les couches détritiques. Ces vers, retrouvés chez l'animal²³¹ et accidentellement chez l'Homme, se nourrissent de bactéries dans les matières organiques en décomposition. Chez l'hôte humain, ils peuvent être observés dans les urines, les selles²³², les sécrétions vaginales voire dans le conduit auditif externe²³³ et peuvent provoquer des diarrhées et des infections cutanées. Dans les latrines de Chambly, ces vers ont acquis un stade larvaire alternatif (larve *dauer*) très

²³⁰ CHARLIER P. *et al.* La lutte contre les mauvaises odeurs : ce qu'apportent le nettoyage et l'étude du matériel des latrines romaines de l'habitation II E J (Délos, Quartier du théâtre). *Ve colloque international de pathographie*. Paris, De Boccard, 2013.

²³¹ SAARI SA, NIKANDER SE. *Pelodera* (syn. *Rhabditis*) *strongyloides* as a cause of dermatitis – a report of 11 dogs from Finland. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2006 ; 48(1) : 18.

²³² SHINOHARA T. Studies on *Rhabditis* (Nematoda, Rhabditidae). 1. *Rhabditis* spp. obtained from human faeces. *J. Kurme Med. Assoc* 1960 ; 23 : 2777–2819.

²³³ TESCHNER M, WÜRFEL W, SEDLACEK L, SUERBAUM S, TAPPE D, HORNEF MW. Outer Ear Canal Infection with *Rhabditis* sp. Nematodes in a Human. *Journal of Clinical Microbiology*. 2014 ; 52(5) : 1793-1795.

résistant²³⁴. L'observation d'une larve encore active (Fig. 21) confirme cette résistance et indique un milieu archéologique non oxygéné ayant conservé un environnement favorable à leur développement, c'est-à-dire un milieu de décomposition de matière organique (faune de rejet) et fécale, ne pouvant toutefois pas permettre d'attester d'une possible atteinte des sujets de la maison-forte.

La présence et la consommation de porc est attestée par les rejets fauniques et pourraient expliquer ces différentes contaminations (passées et présentes) du sol et de l'hôte humain.

On note également la présence de *Dicrocoelium*, ou petite douve du foie (Fig. 22), qui est fréquemment retrouvée dans un cycle immuable entre les déjections de bétail, les mollusques et les fourmis, mais qui infecte l'Homme accidentellement par la consommation de pâté de foie de moutons ou de bœufs contaminés. Des diatomées* (Fig. 23) sont aussi observées, lesquelles se développent dans les milieux humides (le cas ici) mais ne permet pas de témoigner de la consommation de poisson de la part des individus de la maison-forte de Chambly, même si celle-ci est fortement probable. L'impact du système défensif de plusieurs espèces de diatomées sur la santé humaine, et notamment au niveau digestif, fait actuellement l'objet de recherches scientifiques²³⁵. En effet, l'ingestion de certains produits de la mer, à l'instar des moules ou des anchois, peut provoquer un mytilisme amnésiant type ASP et donc des troubles digestifs et neurologiques importants. Ces dépôts latrinaires se caractérisent également par la présence de champignons de type *Alternaria alternata** (Fig. 24) issu d'un milieu humide et chaud, à l'instar de toute espèce de champignon. Ils se multiplient sur les plantes, les dépôts détritiques organiques et les aliments et provoque chez l'Homme différentes pathologies cutanées, allergènes et respiratoires^{236,237}.

Malgré la preuve d'une préoccupation hygiénique que représentent les latrines, la faune parasitaire indique une hygiène ambiante précaire généralisée avec une proximité de la matière fécale (humaine et animale) ainsi qu'une consommation de viandes contaminées,

²³⁴ BYERLY L, CASSADA RC, RUSSELL RL. The life cycle of the nematode *Caenorhabditis elegans*: I. Wild-type growth and reproduction. *Developmental Biology* 1976 ; 51(1) : 23-33.

²³⁵ D'ELBEE J. *Mémento de planctonologie marine*. Versailles, Quae, 2016.

²³⁶ CODY T.D., McCAFFREY T.V., ROBERTS G., KERN E.B. Effects of *Aspergillus fumigatus* and *Alternaria alternata* on Human Ciliated Epithelium in Vitro. *The Laryngoscope* 1997; 107: 11.

²³⁷ BELGARBI-DUTRON L. *Morphologie de la levure Alternaria Alternata*. ENS de Lyon. 2012 [En ligne] <http://biologie.ens-lyon.fr/ressources/tp-direct/etude-de-la-morphologie-de-la-levure-alternaria-alternata> consulté le 03.12.2016

puisque de tels spécimens furent déjà rencontrés lors de l'étude d'ensembles médiévaux (XII^e et XIII^e siècles) de l'île de la Cité de Paris²³⁸.

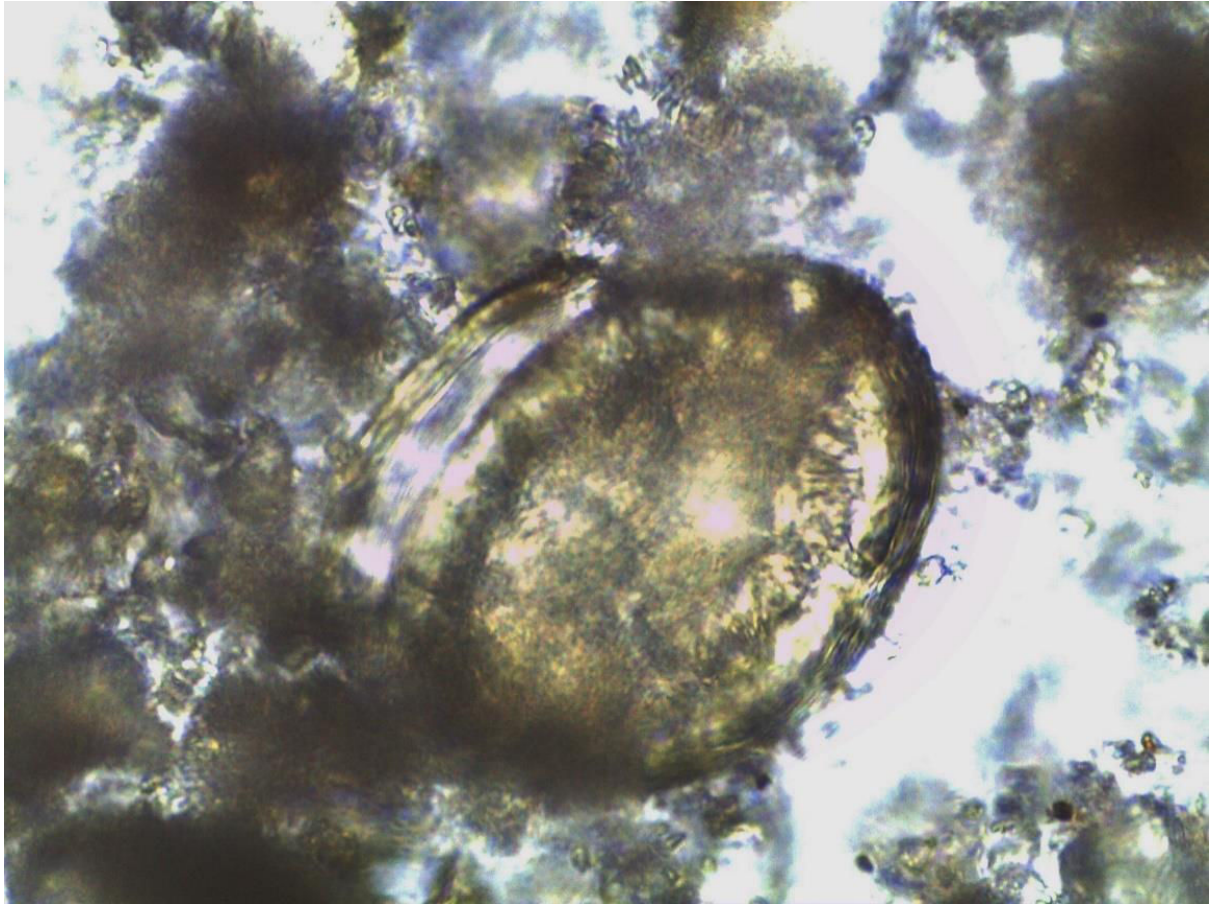


Fig. 17 - Œuf d'*Ascaris lumbricoides* x1000 dans l'échantillon latrinaire C36 (©Anaïs Augias).

²³⁸ BOUCHET F. *et al.* Étude parasitologique des coprolithes et des sédiments de trois ensembles clos médiévaux de la rue de Lutèce (île de la Cité) à Paris. *Revue d'Archéométrie* 1989 ; 13 : 13-21.

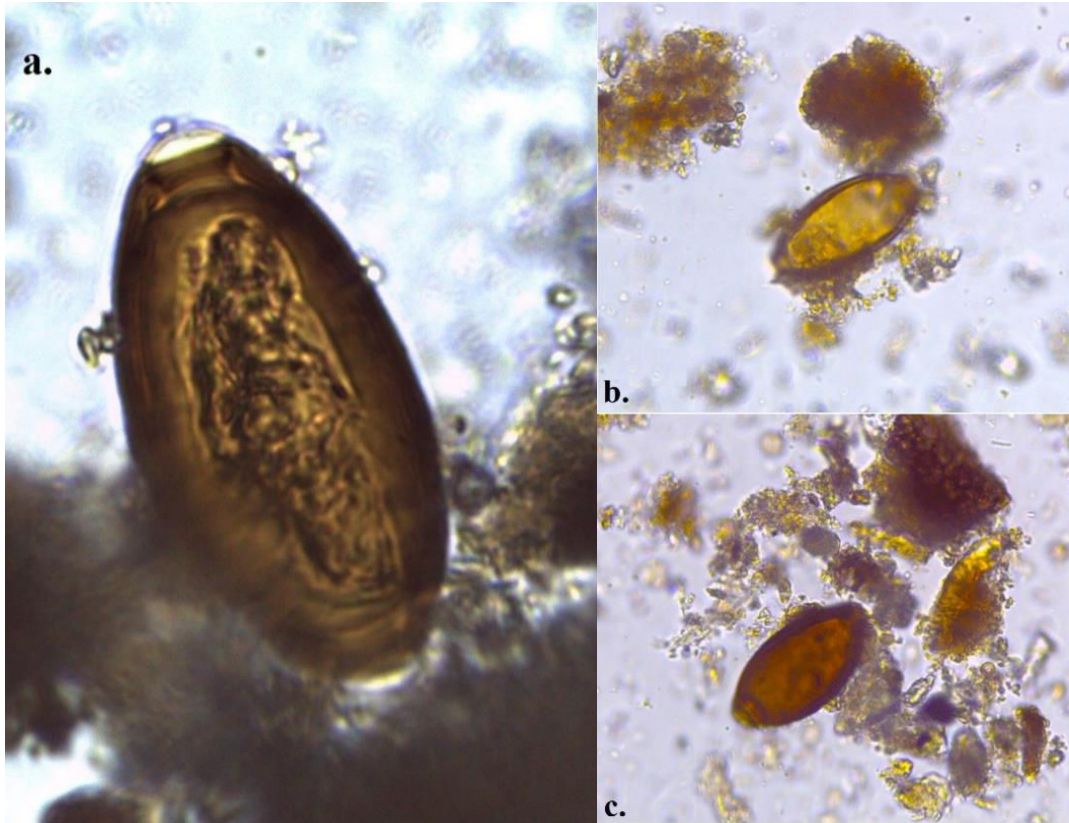


Fig. 18 - Œufs de *Trichuris sp.* plein et vides vus à la microscopie optique dans les échantillons détritiques de Chambly **a.** C53 x1000, **b.** C55 x400, **c.** C47 x400 (©Anaïs Augias).

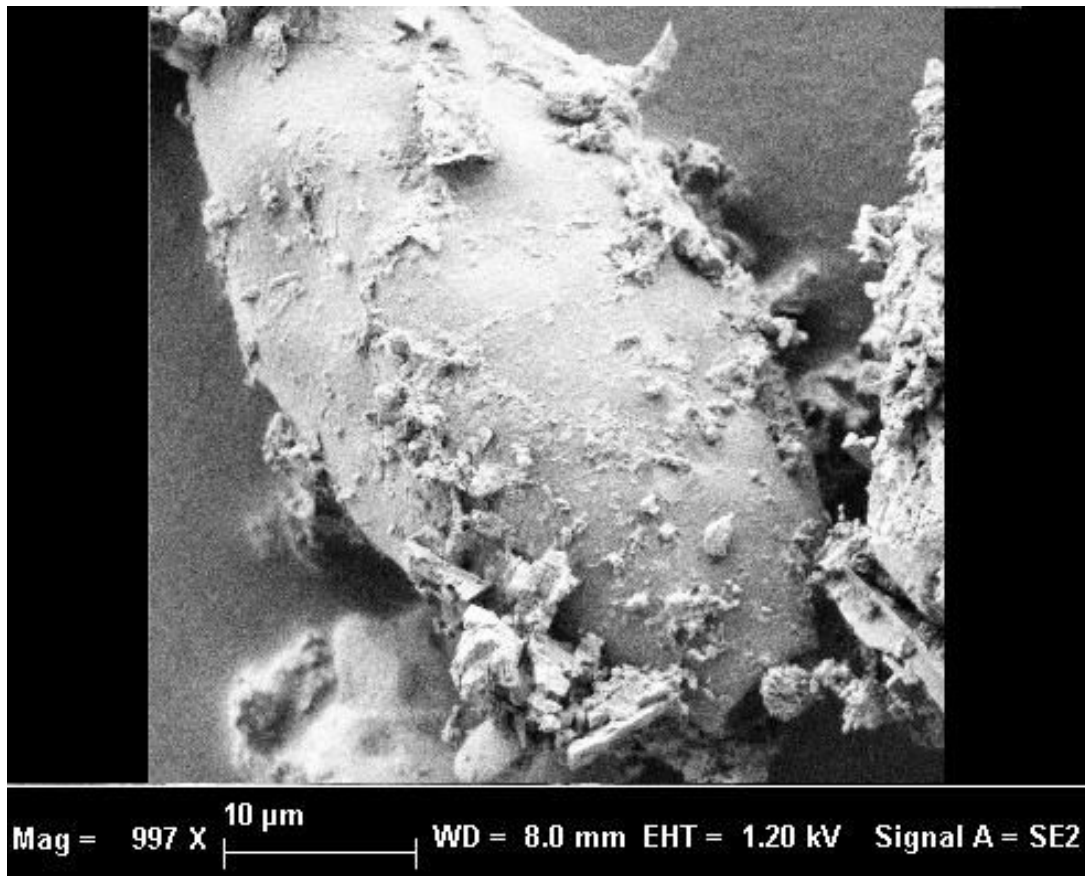


Fig.19 - Œuf de *Trichuris sp.* vide vu au MEB dans l'échantillon C57 (©Anaïs Augias).

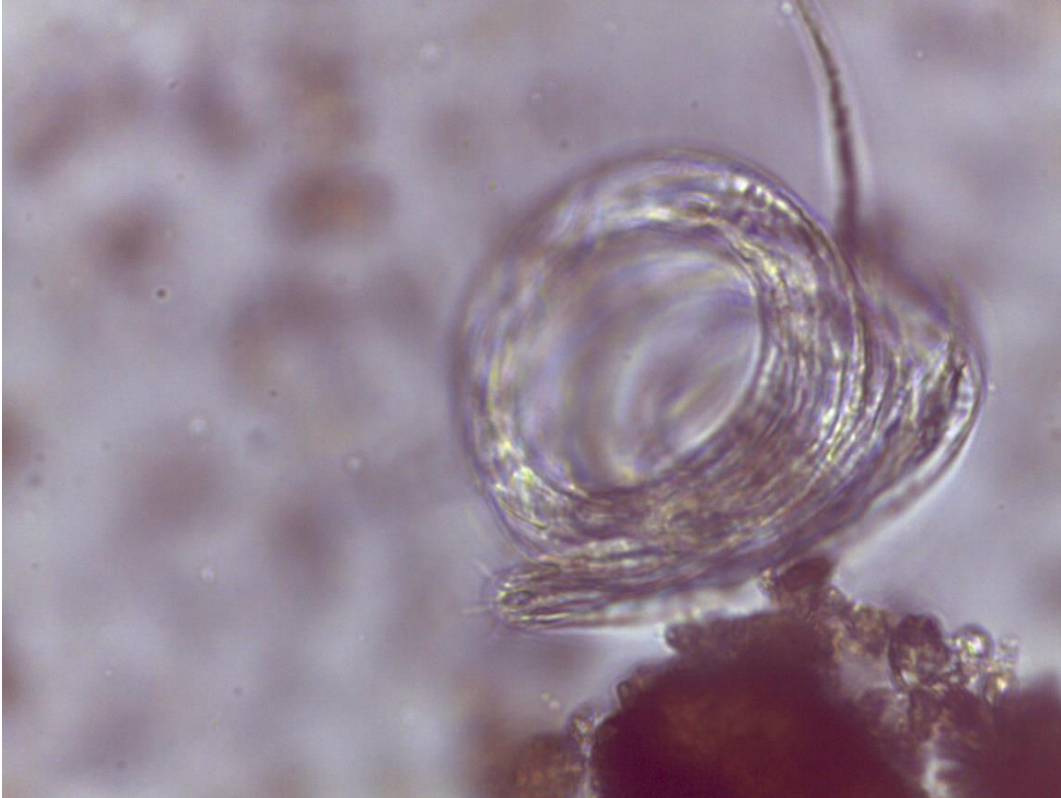


Fig. 20 - *Rhabditis* - échantillon C49 x1000 (©Anaïs Augias).



Fig. 21 - *Rhabditis* vivant - échantillon C53 x400 (©Anaïs Augias).



Fig. 22 - Petite douve *dicrocoelium* - échantillon C51 x1000 (©Anaïs Augias).

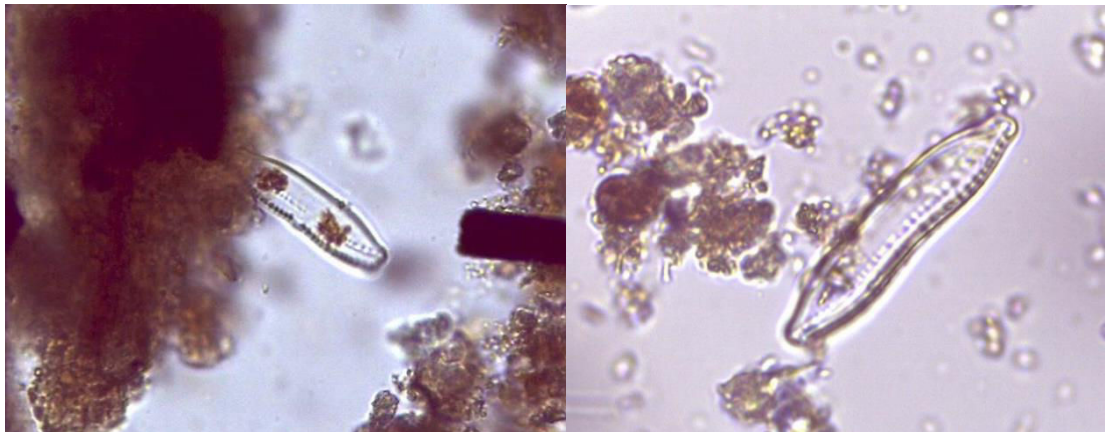


Fig. 23 - Diatomées (de gauche à droite) - échantillon C57 x400 et échantillon C49 x1000 (©Anaïs Augias).

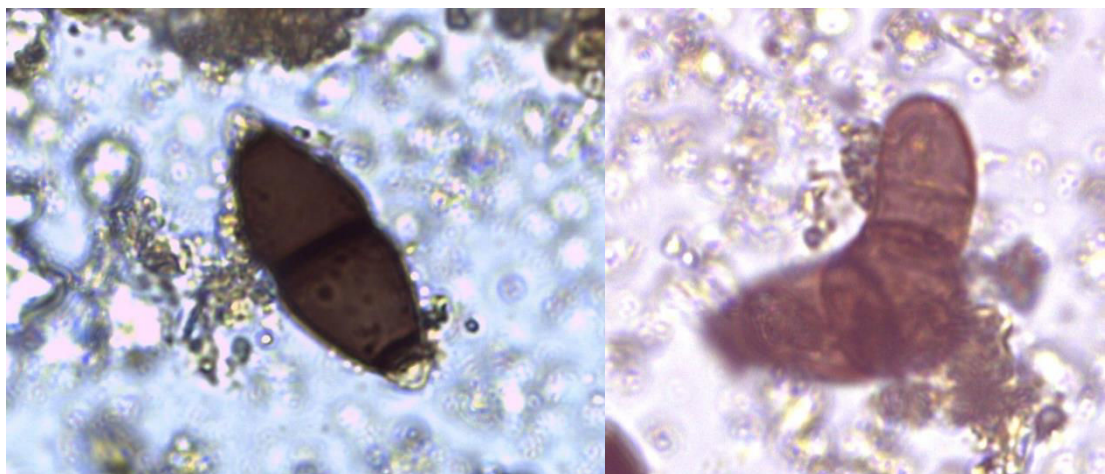


Fig. 24 - Champignons de type *Alternaria alternata* – échantillons C49 et C51 x1000 (©Anaïs Augias).

L'analyse microscopique des latrines maçonnées du 3^{ème} pavillon du Levant du Château de Marly montrent une faune excrémentielle semblable à celle rencontrée dans les dépôts latrinaires de la maison-forte de Chambly, à savoir des œufs de *Trichuris sp.* (Fig. 25), des diatomées (Fig. 26) et d'*Alternaria alternata* (Fig. 27). Le curage des latrines du pavillon royal ne permet pas de retrouver des parasites. Seuls les pavillons des invités (courtisans, personnages militaires et religieux) vont alors nous renseigner sur la santé des personnes de haut rang de la Renaissance. La consommation de coquillages, de tortues, de moules et d'autres poisons ainsi que de viandes telles que de la langue de bœufs, du foie de veau, des rognons de béliers, etc. était effectivement attestée à la cour de Louis XIV à Louis XVI par certains documents anciens^{239,240,241}.

On note également la présence particulière d'un œuf de *Parascaris equorum* (Fig. 28 et 29) dans le 3^{ème} pavillon du Levant. Comme son nom l'indique, il s'agit d'un parasite spécifique du cheval. La présence de ce parasite dans les latrines du pavillon des invités interroge. La selle des personnalités de haut rang se faisait généralement dans des seaux, lesquels étaient déversés dans les latrines par les domestiques. On sait que les écuries du château, à l'instar des bâtiments des officiers, se situaient hors de la grille royale, et étaient dotées de latrines réservées à la domesticité²⁴². Des seaux d'aisance pouvaient se trouver à proximité, dans les écuries ou accompagner la cour. Ainsi, l'évacuation d'éventuels seaux d'aisance de la royauté lors de sorties équestres et la selle des domestiques pouvait se faire dans l'écurie. Ce parasite induit alors une proximité avec les équidés et/ou une possible contamination directe ou indirecte, par la main de domestiques, excréments/main, excréments/bouche de l'Homme, comme par exemple l'utilisation comme engrais d'excréments de chevaux. Effectivement, lors des fouilles archéologiques, de nombreux branchages dans la fosse du 3^{ème} pavillon du Levant ont été découverts ; de l'engrais et autres détritrus de jardinage ont alors pu y être jeté. Une contamination postérieure aurait également pu se faire lors de la démolition du domaine en 1806. Il est également possible d'émettre l'hypothèse d'une hippophagie d'un des invités. La consommation de cheval, attestée depuis

²³⁹ Vte DE GROUCHY, Compte de maison [...]. *Bulletin de la société d'histoire de Paris et de l'Ile-de-France*, 1892 ;19 :53-59. Repris et développé par P. Couperie dans « Les marchés de pourvoierie : viandes et poissons chez les Grands au XVIIe siècle », dans J.-J. Hémarquinier, *op. cit.*, pp. 241-253

²⁴⁰ PEREZ S. *La santé de Louis XIV : une biohistoire du Roi-Soleil*. Paris, Champs Vallon éd., 2007.

²⁴¹ LE HODEY DE SAULTCHEVREUIL E. *Journal des Etats généraux, convoqués par Louis XVI*. Paris, 1790.

²⁴² HEITZMANN A. *Archéologie à Marly : bilan et perspectives*, 2013. [En ligne] <http://crcv.revues.org/11948>, consulté le 28.03.2017.

la préhistoire²⁴³, se rencontre dans différents lieux et rangs sociaux médiévaux²⁴⁴, malgré l'interdiction de l'église chrétienne et le statut noble du cheval. À l'époque du dernier séjour royal en 1789, la consommation de cheval fait débat ; les uns accusent cette viande d'amener des maladies²⁴⁵ et les autres en vantent les bienfaits nutritifs, parmi lesquels Antoine Parmentier (1737-1813)²⁴⁶. Ce dernier est alors pensionnaire aux Invalides du roi Louis XVI pour ses recherches dès 1774²⁴⁷ puis, successivement, censeur royal et apothicaire-major des hôpitaux militaires (division du Havre et de Bretagne)²⁴⁸. Le curage des latrines royales, durant le XVIII^e siècle, ne nous permet toutefois ni de confirmer ou infirmer de manière claire cette hippophagie chez le roi, ni d'aller dans le sens de la présence d'Antoine Parmentier dans l'entourage proche du roi, ni l'influence du scientifique sur ce dernier, malgré le fait que celui-ci préconisait le curage récurrent des latrines²⁴⁹. Toutefois, l'hypothèse de consommation de viande de cheval à la cour de Louis XVI n'est pas fantaisiste. Elle a ainsi pu être servie à la table de la cour ou avoir été consommée indépendamment par un des invités.

Les analyses de microscopie optique des échantillons latrinaires des sites du Château de Marly et de la Maison-forte de Chambly confirment le caractère excrémental des dépôts, le rang social élevé des individus ainsi qu'une faune parasitaire pré-hygiène diversifiée résultant de comportements sanitaires précaires et d'une alimentation carnée et piscivore.

²⁴³ LEVINE MA. Eating horses : the evolutionary significance of hippophagy. *Antiquity* 1998 ; 72(275) : 90-100.

²⁴⁴ FERRIERES M. *Nourritures canailles*. Paris, Seuil, 2007.

²⁴⁵ LETEUX S. L'hippophagie en France. La difficile acceptation d'une viande honteuse. *Terrains et travaux* 2005 ; 9.

²⁴⁶ LEONARD J. *Archives du corps : la santé au XIX^e siècle*. Rennes, Ouest France, 1986.

²⁴⁷ MASSY R. A l'apothicairerie de l'Hôtel Royal des Invalides. Le conflit de 1772 entre l'administration et les Filles de la Charité. *Revue d'histoire de la pharmacie* 1954 ; 42(142) : 315-324.

²⁴⁸ BALLAND A. *Les pharmaciens militaires français*. Paris, Fournier, 1913.

²⁴⁹ LAFONT O. *Parmentier. Au-delà de la pomme de terre*. Paris, Pharmathemes, 2012.

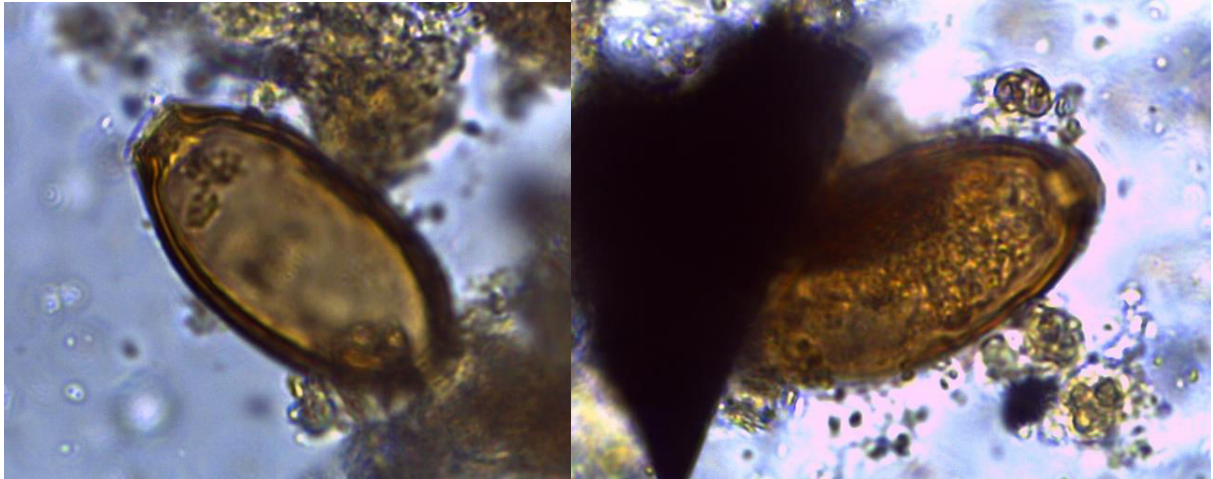


Fig. 25 - *Trichuris sp.* – échantillon M27 x 1000 et M26 x1000 du 3^e pavillon du Levant (©Anaïs Augias).

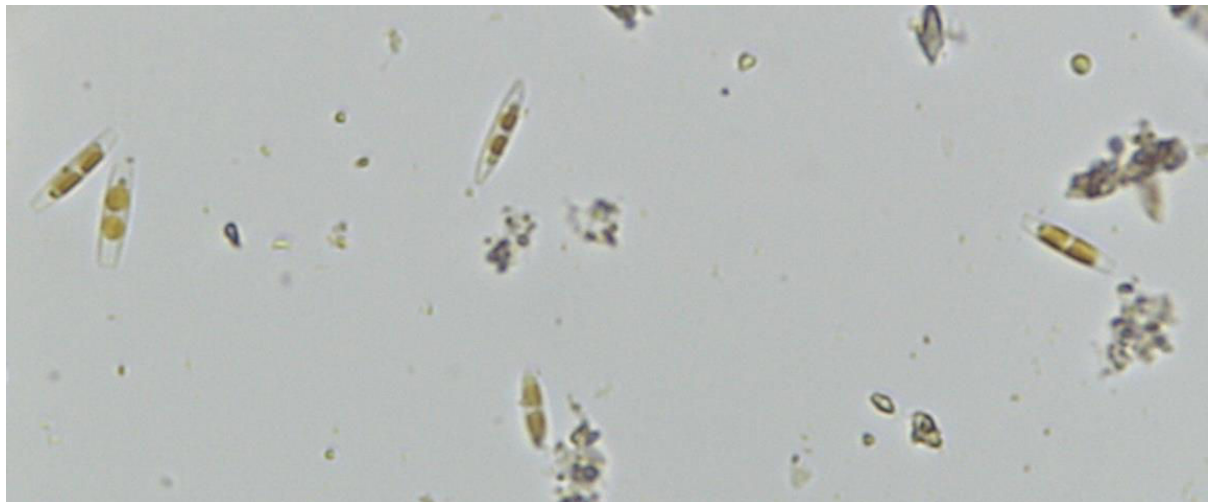


Fig. 26 - Diatomées, échantillon M27 x1000 du 3^eme pavillon du Levant (©Anaïs Augias).

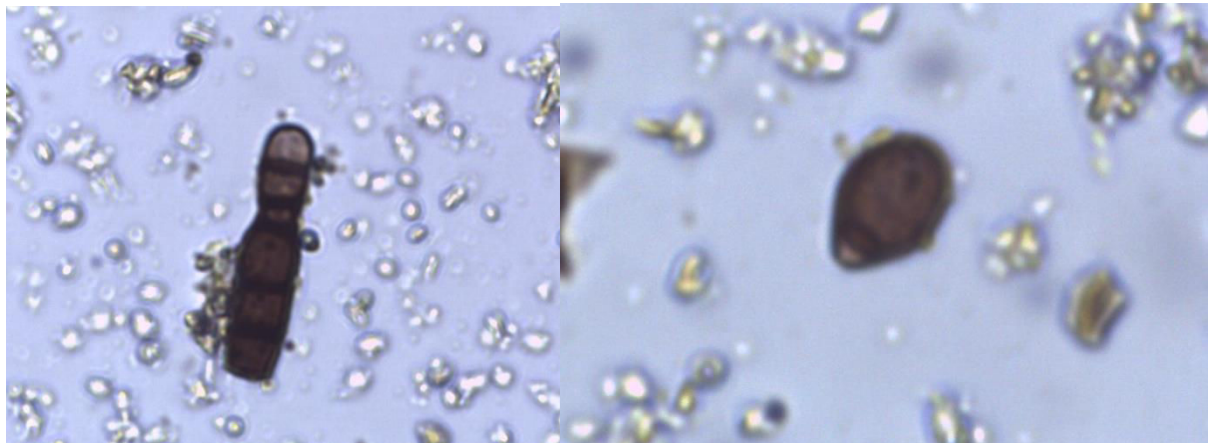


Fig. 27 - Champignons de type *Alternaria alternata* – échantillon M20 x1000 (©Anaïs Augias).

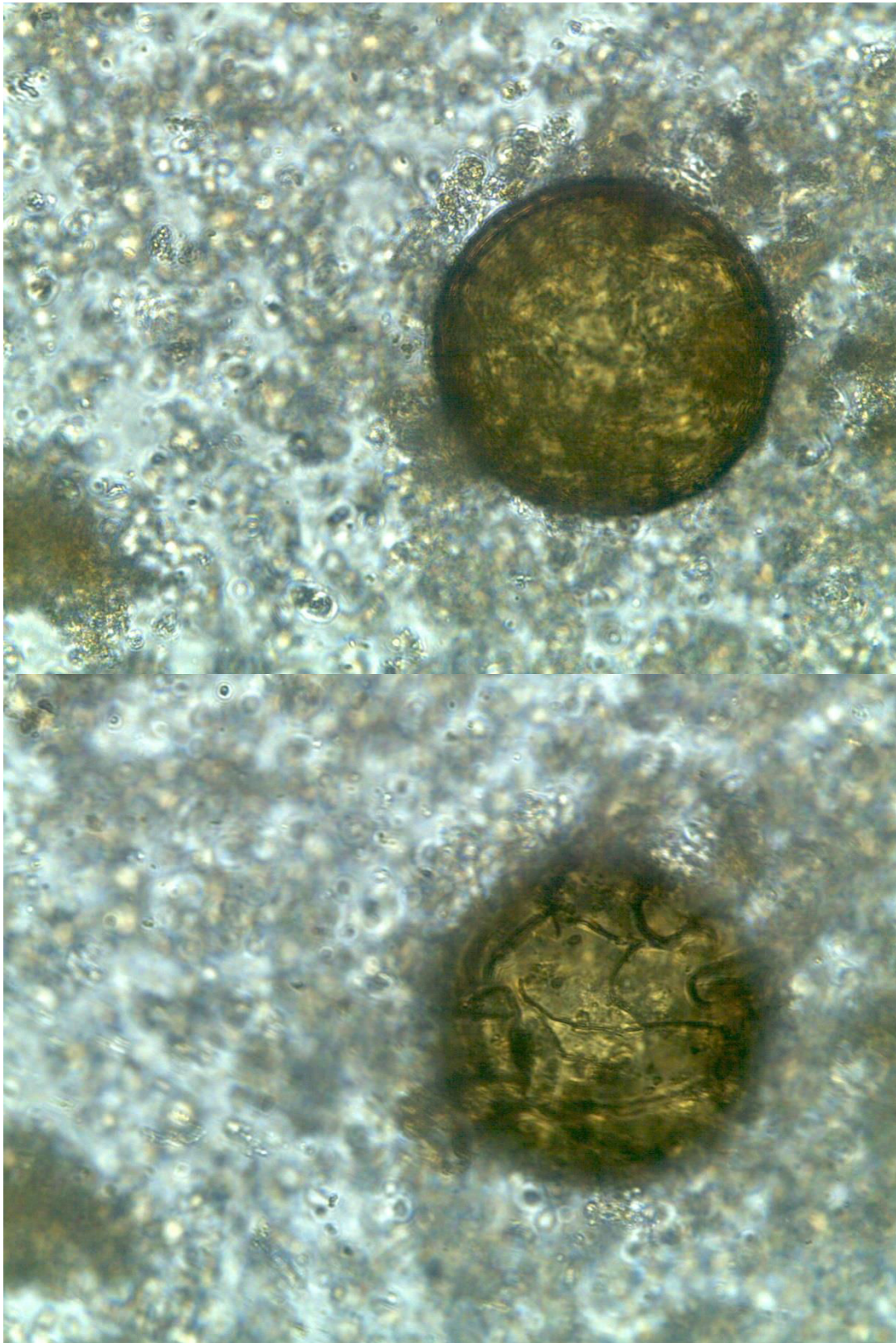


Fig. 28 et 29 - *Parascaris equorum* - échantillon M27 x400 du 3^{ème} pavillon du Levant (©Philippe Charlier).

En effet, les viandes et les poissons étaient des aliments plus couramment consommés par les plus aisés^{250,251}, impliquant indirectement une atteinte intestinale plus marquée chez ces derniers. Ces atteintes parasitaires résultent également d'une présence environnementale importante de matières fécales humaines et animales.

Concernant les analyses microscopiques des dépôts récents, elles se sont révélées négatives pour les échantillons des latrines de la Grande Guerre et des latrines contemporaines de Beauce. Le camp de prisonniers allemands de 1945-1946 présente, quant à lui, de nombreuses larves de *Rhabditis* mais également un œuf d'ankylostome. À l'image des *Trichuris* et des *Ascaris*, les Ankylostomes (Fig. 30) infectent l'homme par le sol²⁵², humide et souillé, provoquant des anémies, des troubles physiques et mentaux et de nombreux décès. Cette infection est fortement représentée en contexte minier.

Bien qu'aucun autre parasite n'ait été observé sur les échantillons en contexte de guerre, de précédentes études microscopiques ont montré des parasites semblables à ceux du Moyen-âge et de la Renaissance. En effet, chez les soldats allemands dans la région d'Alsace, la présence de plusieurs helminthes a été observée dans les latrines de tranchées à Geispolsheim (*Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides* et *Taenia* sp.)²⁵³ et dans la cavité abdominale de deux soldats à Carspach (œufs de vers rond, *Trichuris trichiura*, de *capillaria* et *Taenia* sp.)²⁵⁴.

²⁵⁰ LAURIOUX B. *Le Moyen Age À table*. Paris, Adam Biron, 1989.

²⁵¹ ADAMSON MW. *Food in Medieval Times*. Westport, Connecticut, Greenwood Press, 2004.

²⁵² COTE N. *Apports de la paléogénétique à l'étude des helminthes gastro-intestinaux anciens*. Thèse. Ecologie, Environnement. Université de Franche-Comté, 2015.

²⁵³ LE BAILLY M., LANDOLT M., BOUCHET F., First World War German Soldier Intestinal Worms : An Original Study of a Trench Latrine in France. *Journal of Parasitology* 2012 ; 98(6) : 1273-1275.

²⁵⁴ LE BAILLY M., LANDOLT M., MAUCHAMP L., DUFOUR B. Intestinal Parasites in First World War German Soldiers from "Kilianstollen", Carspach, France. *PLoS ONE* 2014 ; 9(10).

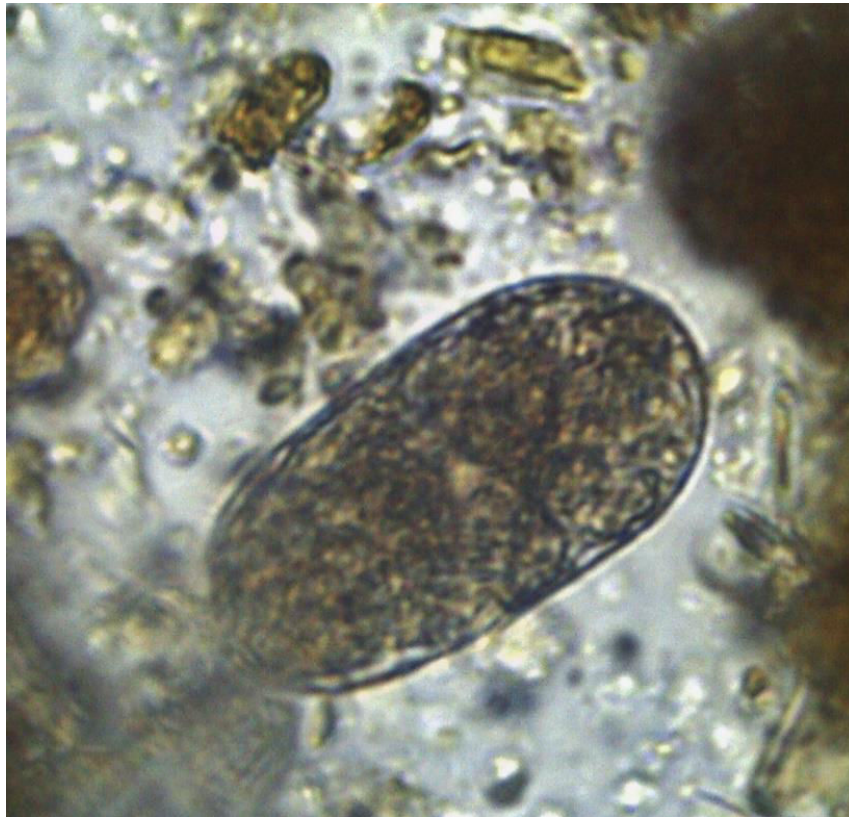


Fig. 30 - Œuf d'Ankylostomose – échantillon STE 4 x 1000 (©Anaïs Augias).

Certaines présences parasitaires peuvent être des indicateurs chronologiques indirects. Les phytopathogènes *Alternaria alternata*, très répandus dans l'environnement contemporain, sont attestés dans les deux contextes clos anciens et pourraient indiquer de possibles réactions allergènes, cutanées et respiratoires^{255,256}, similaires à celles rencontrées aujourd'hui. Toutefois, bien que la présence de champignons *Alternaria alternata* soit commune, elle n'est attestée que dans les échantillons latrinaires anciens.

La présence de *Rhabditis* confirme un milieu favorable au développement de ces larves et/ou un environnement sanitaire moins élevé et/ou une contamination d'éléments de rejet organique ou humaine. La présence différentielle de parasites à la microscopie semble résider dans le contexte de conservation. En effet, les larves *Rhabditis* se rencontrent

255 CODY T.D., McCaffrey T.V., Roberts G., Kern E.B. Effects of *Aspergillus fumigatus* and *Alternaria alternata* on Human Ciliated Epithelium in Vitro. *The Laryngoscope* 1997 ; 107 : 11.

256 BELGARBI-DUTRON L. *Morphologie de la levure Alternaria Alternata*. ENS de Lyon, 2012. [En ligne] <http://biologie.ens-lyon.fr/ressources/tp-direct/etude-de-la-morphologie-de-la-levure-alternaria-alternata>, consulté le 03.12.2016.

uniquement dans les milieux d'échantillonnage propice à leur développement (souillure et humidité), soit la maison-forte de Chambly, le 3^{ème} pavillon du Levant du château de Marly et le camp de prisonniers allemands.

Ainsi, bien qu'elles ne sont en aucun cas un indicateur sanitaire des populations utilisatrices des latrines, une distinction entre les périodes *pré* et *post*-hygiène est observé, laquelle peut résulter du contexte humide conservé par une structure maçonnée et/ou induire une atteinte allergène environnementale plus importante.

2.1.2 Les analyses élémentaires

Les analyses élémentaires (Annexe 25) des échantillons latrinaires expriment des éléments naturellement présents dans le Corps Humain (CH) et dans la Croute Terrestre (CT) : Al, As, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, F, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, S, Se, Si, Sr, Ti, V, Zn²⁵⁷. Un taux plus important de ces éléments ainsi que la présence d'autres éléments plus lourds pourraient être caractéristiques d'un contexte anormal. La matière organique en décomposition émet également de l'azote (N), du potassium (K) et du phosphore (P). La présence métallique mineure de plomb (Pb), de mercure (Hg), d'arsenic (As)²⁵⁸, de chrome (Cr), de cadmium (Cd) pourrait dans le sens d'une intoxication du sol ou de l'utilisateur des latrines.

Les prélèvements anciens expriment des taux de métaux lourds intéressants mais discutables (Annexe 26). Bien que le comblement des latrinaires *II E j* de l'habitation de Délos soit pourvu d'objets métalliques, les résultats de l'analyse élémentaire expriment un taux majeur de plomb (113 µg/g) et mineur de Lithium (95 µg/g) (Annexe 27). La présence de plomb pourrait s'expliquer par l'utilisation de ce métal dans les structures²⁵⁹, et plus particulièrement pour les gaines d'évacuation²⁶⁰. Au vu de la rareté du lithium dans la nature, sa persistance mineure dans ces dépôts antiques interroge et pourrait aller dans le sens d'une bioaccumulation par les organismes marins²⁶¹ et donc d'une consommation, par les occupants de l'habitation antique, de produits de la mer se révélant toxiques. Toutefois, le lithium peut se retrouver de manière naturelle dans les eaux thermales. Compte tenu de l'aménagement de l'habitation, et plus particulièrement de l'écoulement des eaux du bain sur le sol des latrines,

²⁵⁷ POUPON J., POLET C. Analyse élémentaire des restes humains anciens. In : CHARLIER P. (dir), *Ostéo-archéologie et techniques médico-légales : tendances et perspectives. Pour un Manuel pratique de paléopathologie humaine*. Paris, De Boccard, 2008.

²⁵⁸ BAIRD C., CANN M. *Environmental chemistry*. New-York, Fourth ed., 2008.

²⁵⁹ CHAMONARD J. Fouilles de Délos (1904) : fouilles dans le quartier du Théâtre. *Bulletin de correspondance hellénique* 1906 ; 30 (1) : 485-606.

²⁶⁰ CHARLIER P. *et al.* La lutte contre les mauvaises odeurs : ce qu'apportent le nettoyage et l'étude du matériel des latrines romaines de l'habitation II E J (Délos, Quartier du théâtre). *Ve colloque international de pathographie*. Paris, De Boccard, 2013.

²⁶¹ CHASSARD-BOUCHAUD C, GALLE P, ESCAIG F, MIYAWAKI M. Bioaccumulation of lithium by marine organisms in European, American, and Asian coastal zones : microanalytic study using secondary ion emission. *CR Acad Sci III*. 1984 ; 299(18) : 719-724.

il est possible d'imaginer la pratique de bain à base de sels de lithium, connu depuis longtemps pour ses qualités thérapeutiques, notamment psychiatriques, et déjà prescrit par Soranus d'Ephèse (98-177)²⁶².

La présence, en plus faible quantité, de ce métal est également attestée dans les dépôts latrinaires de Chambly et Marly (Fig. 31), pouvant s'expliquer de la même manière. Les analyses élémentaires de la Maison-forte de Chambly (XII^e et XIV^e siècles) n'expriment pas de taux significatif d'autres métaux lourds (Annexe 27).

À l'inverse des deux précédents cas, dans les latrines du château de Marly, on observe des taux majeurs à mineurs et des traces de divers métaux lourds dans les moyennes (Annexe 28), distinguant alors deux tendances ; le pavillon royal et le 3^{ème} pavillon du Levant, recevant les invités : le plomb (respectivement 6 096 µg/g et 882 µg/g), l'arsenic (respectivement 8 et 20 µg/g), l'étain (respectivement 51 et 166 µg/g), l'argent (respectivement 13 et 50 µg/g), le zinc (respectivement 52 et 478 µg/g), le cuivre (respectivement 124 et 245 µg/g) et le mercure (respectivement 8 et 16 µg/g), lequel est inexistant dans les autres sites anciens.

Une nette distinction apparaît alors entre ces trois sites, laquelle pourrait s'expliquer par le développement du mouvement hygiéniste et de l'alchimie médicale. En effet, dès le XV^e siècle sont mis en place de nombreux remèdes à base de métaux lourds (argent, cuivre, plomb, mercure, or, étain, arsenic et antimoine) comme en témoigne le *Traité de médecine métallique* de Joseph du Chesne publié en 1641²⁶³. Ainsi, l'arsenic (As) était utilisé pour lutter contre l'angine, le rhume et la fièvre. Au milieu du XIII^e siècle, l'arsenic a également été mêlé au mercure pour sublimer ce dernier²⁶⁴. Le mercure (Hg), sous la préparation nommée « Sublimé corrosif »²⁶⁵, a longtemps été utilisé contre les maladies vénériennes et plus particulièrement la syphilis²⁶⁶. Le caractère antihelminthique de l'étain (Sn) était, quant à lui, déjà connu par Basile Valentin (1394-1450)²⁶⁷. Au XVII^e siècle, de nombreux médecins l'ont prescrit sous forme de granulés, de poudre ou simplement limé, particulièrement contre le ténia^{268,269}. On confère très tôt à l'argent le pouvoir de détruire les pathogènes, notamment

²⁶² DESSEILLES M., PERROUD N., GROSJEAN B. *Manuel du bipolaire*. Paris, Eyrolles, 2017.

²⁶³ LE BEGUE DE PRESLE A.G. *Mémoire pour servir à l'histoire de l'usage interne du mercure sublimé corrosif*. Paris, A la Haye, 1764.

²⁶⁴ *Ibid.*

²⁶⁵ *Ibid.*

²⁶⁶ TILLES G., WALLACH D. Histoire du traitement de la syphilis par le mercure : 5 siècles d'incertitudes et de toxicité. *Revue d'histoire de la pharmacie* 1996 ; 84 (312) : 347-351.

²⁶⁷ POTT J.H. *Dissertations chymiques de M. Pott*. Paris, Chez Jean Thomas Herissant, 1759.

²⁶⁸ SOUBEIRAN E. *Nouveau traité de pharmacie théorique et pratique*, Paris, Crochard, 1836.

selon les écrits d'Hérodote (IV^e siècle av. J.-C.)²⁷⁰. Il a ensuite été longtemps utilisé en chirurgie pour la cautérisation ou en suture sous forme de fil puis en pharmacologie comme antiphlogistique et contre la phlegmasie des muqueuses, contre les infections cutanées et la dysenterie, la fièvre typhoïde ou la blennorragie²⁷¹. Enfin, le cuivre était utilisé contre les démangeaisons, les maux de tête et les ulcères.

La présence simultanée de mercure, fer, cuivre et arsenic, mieux représentée dans les latrines du 3^{ème} pavillon du Levant où séjournèrent les invités, est compatible avec l'usage de traitement contre les maladies vénériennes ou de peau²⁷² existant depuis le XV^e siècle.

Toutefois, là encore, il est important de ne pas négliger le contexte de ces dépôts archéologiques. Cette présence de métaux lourds dans les latrines du Château de Marly résulte essentiellement du dépôt d'objets dans le comblement. En effet, des anneaux en alliage cuivreux, un poids d'horloge en plomb, des morceaux de vitraux en plomb, des fragments de fer ou des clous en cuivre ont été mis au jour dans le comblement des latrines du 3^{ème} pavillon du Levant (M26-M27). Aucun mobilier n'a été découvert dans le pavillon royal puisque celles-ci ont été curées, mais des objets équivalents auraient pu y être jetés. Ainsi, ne peuvent entrer dans une possible interprétation médicale, le plomb, le cuivre, le fer et l'étain puis le zinc, car pouvant entrer dans la composition de l'alliage cuivreux. Il en est de même pour la présence de mercure (Hg). Bien qu'aucun mobilier de ce métal n'ait été mis au jour dans les latrines analysées, des boules de mercure, utilisées pour les miroirs, ont été mises au jour dans la fosse d'un autre pavillon lors de précédentes opérations archéologiques.

Le taux mineur d'argent (Ag) et l'absence de mobilier de cet élément dans d'autres latrines, vont dans le sens d'une présence anormale et peut-être d'un traitement médicamenteux²⁷³. L'usage thérapeutique de l'argent est retrouvé, dès l'antiquité égyptienne, comme cicatrisant, traitement cutané et contre les ulcères et les parasites²⁷⁴ où les feuilles

²⁶⁹ LARTIGUE A. *Encyclographie médicale, ou résumé analytique et complet de tous les journaux de médecine et de pharmacie publiés en France*. Paris, Chez le rédacteur en chef éd., 1845.

²⁷⁰ LARCHER M. *Histoire d'Hérodote*. Paris, Musier, 1786.

²⁷¹ CAZENAVE A. *Annales des maladies de la peau et de la syphilis*. Paris, Chez Labé, 1844

²⁷² AMZALLAG G.N. *La réforme du vrai : enquête sur les sources de la modernité*. Paris, Charles Léopold Mayer, 2010.

²⁷³ CHARLIER P. *et al.* Fatal alchemy. Did gold kill a 16th century French courtesan and favourite of Henri II, ask. *BMJ* 2009 ; 339 : 1402-1403.

²⁷⁴ PERROS J. *L'argent colloïdal : Un remède en or ! L'antibiotique naturel. Ses propriétés et son utilisation*. Paris, Guy Trédaniel, 2014.

d'argent enrobent certaines pilules²⁷⁵. Toutefois, bien que l'argent (Ag) ne soit pas représenté dans le mobilier de comblement du 3^{ème} pavillon du Levant, sa présence ancienne n'est pas impossible dans les latrines du pavillon du roi. Ainsi, seule la présence mineure de l'argent (Ag), pour les latrines du 3^{ème} pavillon du Levant pourrait alors nous interpeller et être interprétée comme une potentielle médication individuelle ou générale des usagers.

Malgré les démarches hygiénistes du XV^e siècle, pouvant être exprimées dans les dépôts du château de Marly, la microscopie optique ne montre aucune distinction parasitaire entre ces deux derniers sites anciens.

²⁷⁵ CHEVALLIER A, RICHARD A. *Dictionnaire des drogues simples et composées ou Dictionnaire d'Histoire naturelle médicale, de pharmacologie et de chimie pharmaceutique*. 1er tome, Paris, Béchot Jeune, 1827.

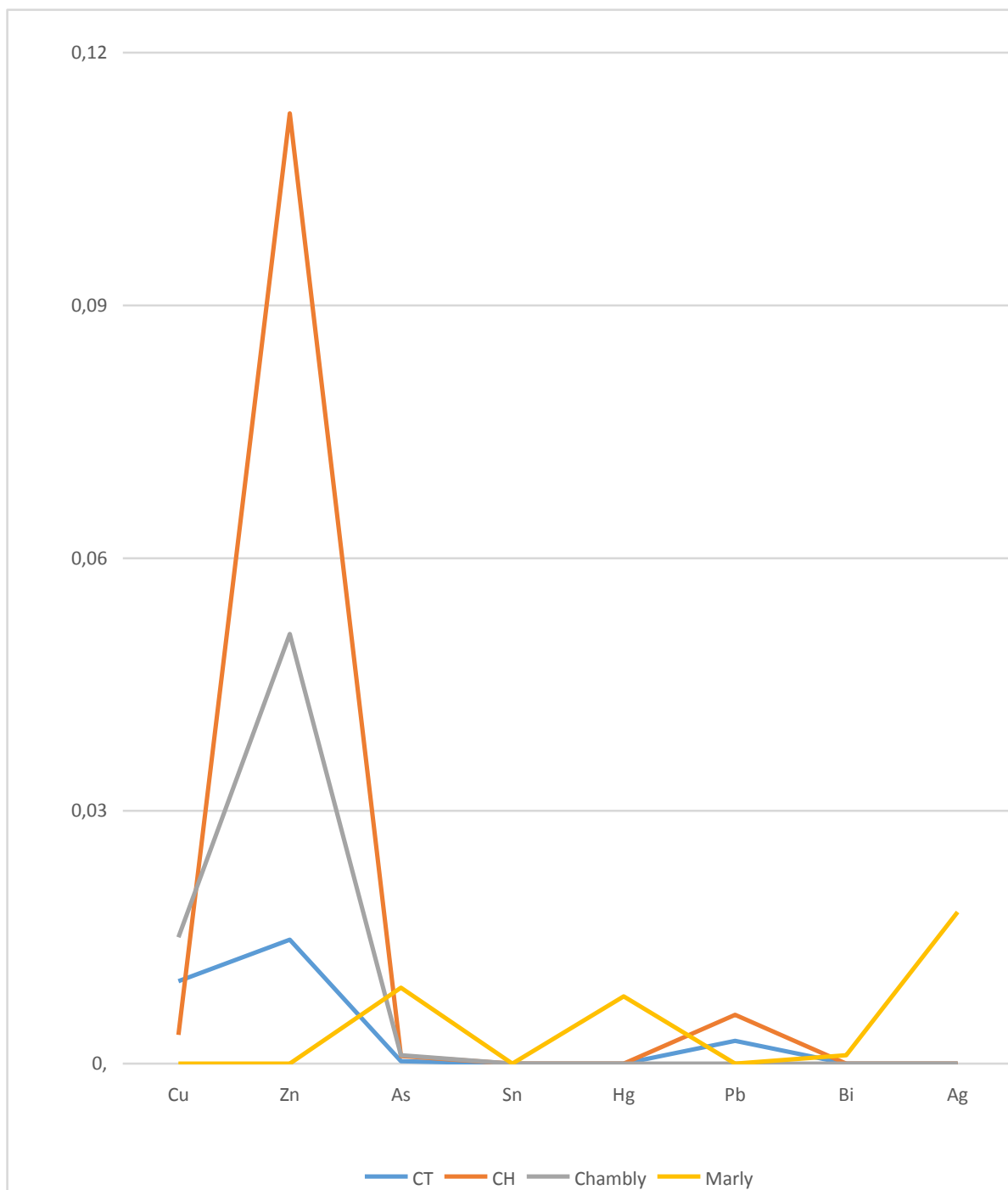


Fig. 31 - Analyse comparative (en %) de présence de métaux lourds entre la croûte terrestre (CT), le corps humain (CH) et les échantillons latrinaires anciens. Les taux de plomb, étain et cuivre ont été ôtés des échantillons du site de Marly en raison de matériel métallique associé (©Anaïs Augias).

Concernant les sites de la Grande Guerre (Fig. 32, Annexe 29), ils ne montrent pas de taux significatifs de métaux lourds, à l'exception du site de Cernay présentant un taux important de plomb (Annexe 30).

Les deux sites les plus récents (Annexe 31) expriment un taux de zinc (Zn) majeur. Le camp de prisonniers allemands de Stenay (1945-1946) présente également un taux non négligeable d'étain (Sn), de cuivre (Cu), lithium (Li), de bismuth (Bi) pour les échantillons STE 1 et 4, de mercure (Hg), d'arsenic (As) et de plomb (Pb) pour l'échantillon STE 4.

Le bismuth (Bi) est conseillé dès 1786 par Odier (1748-1817) qui le préconisait pour lutter contre les désagrèments abdominaux (diarrhées, coliques, menstruations, etc.)²⁷⁶. Dans les traitements commercialisés, le bismuth est associé à l'arsenic. Le lithium (Li) se retrouve de façon différentielle dans les couches stratigraphiques et ne s'explique plus seulement par la bioaccumulation par des organismes marins ou des bains thérapeutiques, mais également par l'apparition à la fin du XIX^e siècle de traitements contre la goutte ou pour dissoudre les calculs dans la vessie²⁷⁷, par ingestion de l'eau ou par injection. Il apparaît également des sels de lithine sous forme de granulés effervescents à délayer dans l'eau, parmi lesquelles « les lithinés de Dr Gustin » pour traiter les atteintes de la vessie, de l'estomac, de l'intestin, de la peau, les rhumatismes et le diabète²⁷⁸.

Dans ces contextes militaires, le taux important de plomb, de cuivre ou d'étain peut résulter d'une contamination de cartouches ou douilles, utilisées depuis longtemps dans l'armée^{279,280}.

²⁷⁶ TROUSSEAU A., PIDOUX H. *Traité de thérapeutique et de matière médicale*. Paris, P. Asselin, 1875.

²⁷⁷ RAYNAL C. Un exemple d'eau minérale artificielle à reconstituer chez soi : les fameux « Lithinés du Dr Gustin ». *Revue d'histoire de la pharmacie* 2007 ; 94 (356) : 505-518.

²⁷⁸ *Ibid.*

²⁷⁹ DE BRIQUET P. *Code militaire, ou, Compilation des ordonnances des roys de France concernant les gens de guerre*. Paris, Chez Prault père, 1728.

²⁸⁰ *Dictionnaire militaire, portatif, contenant tous les termes propres à la guerre ; sur ce qui regarde la tactique, le génie, l'artillerie, la subsistance, la discipline des troupes et la marine*. Paris, Gisse, 1758.

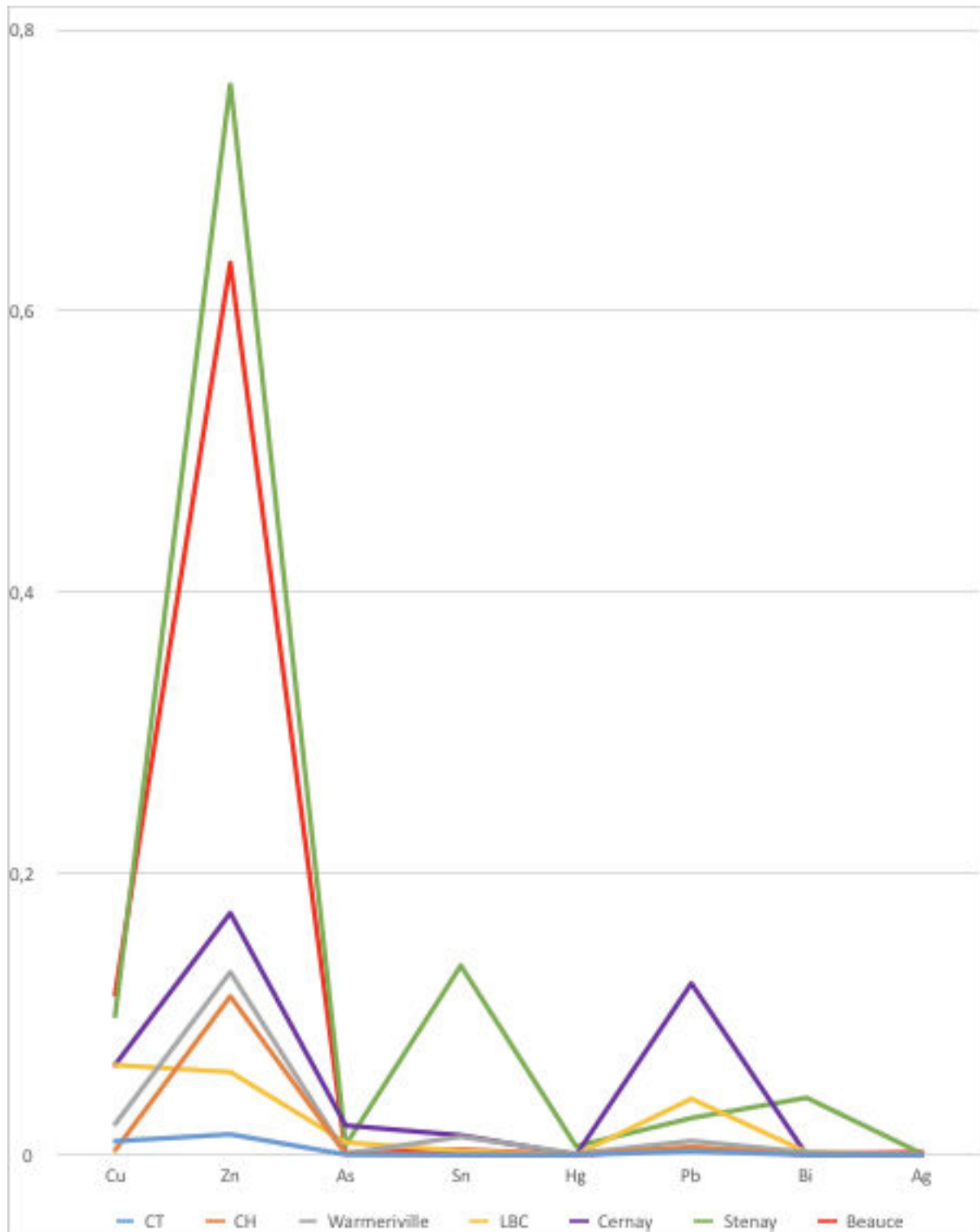


Fig. 32 - Analyse comparative (en %) de présence de métaux lourds entre la croûte terrestre (CT), le corps humain (CH) et les échantillons latrinaires récents (©Anaïs Augias).

2.1.3 Extraction ADN

Les mesures au spectrophotomètre NanoDrop des 42 échantillons nous permettent de connaître la quantité en acides nucléiques (ADN/ARN) et semblent donner des résultats différents en fonction de l'aspect plus ou moins organique/sédimentaire des prélèvements (Annexes 32 et 33). L'utilisation de trois kits distincts s'explique alors par la première extraction menée sur les échantillons anciens (latrines romaines de l'habitation II E J de Délos, de la maison-forte de Chambly et du château de Marly). Celle-ci a été effectuée avec le kit *MoBio PowerFecal DNA Isolation* et avait donné des résultats différentiels ; les échantillons de la maison-forte de Chambly fournissant des concentrations nucléiques satisfaisantes, contrairement aux échantillons des sites de Délos et du château de Marly. Ces résultats différentiels pourraient alors s'expliquer par l'aspect moins organique/plus sédimentaire des échantillons de Délos et Marly. De ce fait, et dans le but de ne pas éliminer des échantillons importants, il a été décidé d'appliquer un nouveau protocole sur ces derniers en utilisant un kit adapté à l'extraction d'ADN à partir de sol (mieux adapté en présence d'inhibiteurs environnementaux).

Une éventuelle contamination est écartée par les résultats des blancs (Annexes 34).

Seules les extractions ADN dépassant les 4ng/μl ont été envoyées à la PCR, soit un total de 45 extractions d'échantillons anciens et modernes (Annexe 35). Une fois les protocoles de PCR appliqués (Annexes 36 et 37), les produits de PCR (qui ont été doublés) sont testés sur gel d'agarose (Annexe 38 et 39), montrant des résultats positifs, sauf pour les blancs. Tous les sites ne sont malheureusement pas représentés dans la phase de PCR. Du fait de sa concentration nucléique trop faible (inférieur à 4 ng/μl), le site antique de Délos (DEL) ne bénéficiera pas d'analyse microbiologique. Ces résultats pourraient résulter de l'ancienneté et de l'oxydation des échantillons.

Les amplicons sélectionnés sont alors envoyés à l'Institut Pasteur pour le séquençage.

2.1.4 Etude des données taxonomiques brutes

L'ensemble des dépôts se caractérise par la présence systématique des quatre principaux phylums caractéristiques des dépôts intestinaux^{281,282,283} (Fig. 33) : *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, Proteobactéries et Acidobactéries.

Ces premiers résultats bruts semblent dessiner une évolution chronologique : lorsque l'on compare les taxons modernes et anciens, on note une diminution de la diversité taxonomique mais une augmentation des phylums exprimés, tandis que d'autres semblent stables. Ainsi, depuis les dépôts des XII^e et XIV^e siècles de la maison-forte de Chambly, on observe une présence plus ou moins stable des Protéobactéries, une augmentation des *Firmicutes* et *Bacteroidetes* puis une diminution des phylums acidobactéries, actinobactéries, *Gemmatimonadetes* ainsi qu'une quasi-disparition des *Euryarchaeota*, *Spirochaetae*, *Verrucomicrobia*, *Chloroflexi*, *Nitrospirae*, Ignavibactérie.

Ces modifications temporelles pourraient aller dans le sens d'une dysbiose. Toutefois, la présence majoritaire des Proteobactéries (Fig. 34), suivies des Acidobactéries, interroge et peut aller dans le sens d'une contamination lors des manipulations de laboratoire ou caractériser respectivement les phylums de l'eau et du sol²⁸⁴ et donc une contamination environnementale. En effet, dans le cas d'échantillons latrinaires, la contamination du sol n'est pas à exclure. Ces dépôts présentent la difficulté d'être intermédiaires entre le sol et les fèces (Fig. 35)²⁸⁵.

La majorité phylogénique différentielle observée sur l'ensemble des dépôts analysés, et plus particulièrement la présence majoritaire de *Firmicutes* et de *Bacteroidetes* des deux latrines récentes de Stenay et Beauce, pourrait aller dans le sens d'une contamination limitée de ces deux sites récents, puisque ces phylums représentent la grande majorité de

²⁸¹ BEAUGERIE L., SOKOL H. Microbiote et immunité intestinale. *Les fondamentaux de la pathologie digestive* 2014 : 189-199.

²⁸² LEPAGE P. Le microbiote intestinal humain : interactions avec l'hôte et dysfonctions. *Feuillets de Biologie* 2015 : 323.

²⁸³ MATIJAŠIĆ M. et al. Modulating Composition and Metabolic Activity of the Gut Microbiota in IBD Patients. *Int J Mol Sci.* 2016 ; 17(4) : 578.

²⁸⁴ TITO R.Y. KNIGHTS D., METCALF J., OBREGON-TITO A.J., CLEELAND L., et al. Insights from Characterizing Extinct Human Gut Microbiomes ». *Plos One* 2012 ; 7 (12).

²⁸⁵ PEHRSSON E.C., TSUKAYAMA P., PATEL S., et al. Interconnected microbiomes and resistomes in low-income human habitats. *Nature* 2016 ; 533 : 212-216.

l'écosystème microbien humain^{286,287}. Si le contexte taphonomique du site de Stenay et sa quasi-absence de contamination microbienne environnementale ne sont pas des faits sûrs, ce n'est pas le cas du site de Beauce. De ce fait, pour les premières observations taxonomiques, l'échantillon de ce site contemporain fait office de référence, avec la suppression des Proteobactéries et Actinobactéries, lesquels sont susceptibles de contenir un taux de taxons environnementaux élevé.

La priorité est alors d'évaluer les contaminations de laboratoire et environnementales.

²⁸⁶ TITO R.-Y., KNIGHTS D., METCALF J., OBREGON-TITO A.J., CLEELAND L. *et al.* Insights from Characterizing Extinct Human Gut Microbiomes. *Plos One* 2012 ; 7(12).

²⁸⁷ TITO R.-Y. *et al.*, « Subsistence strategies in traditional societies distinguish gut microbiomes ». *Nature communications* 2015 ; 6 : 6505.

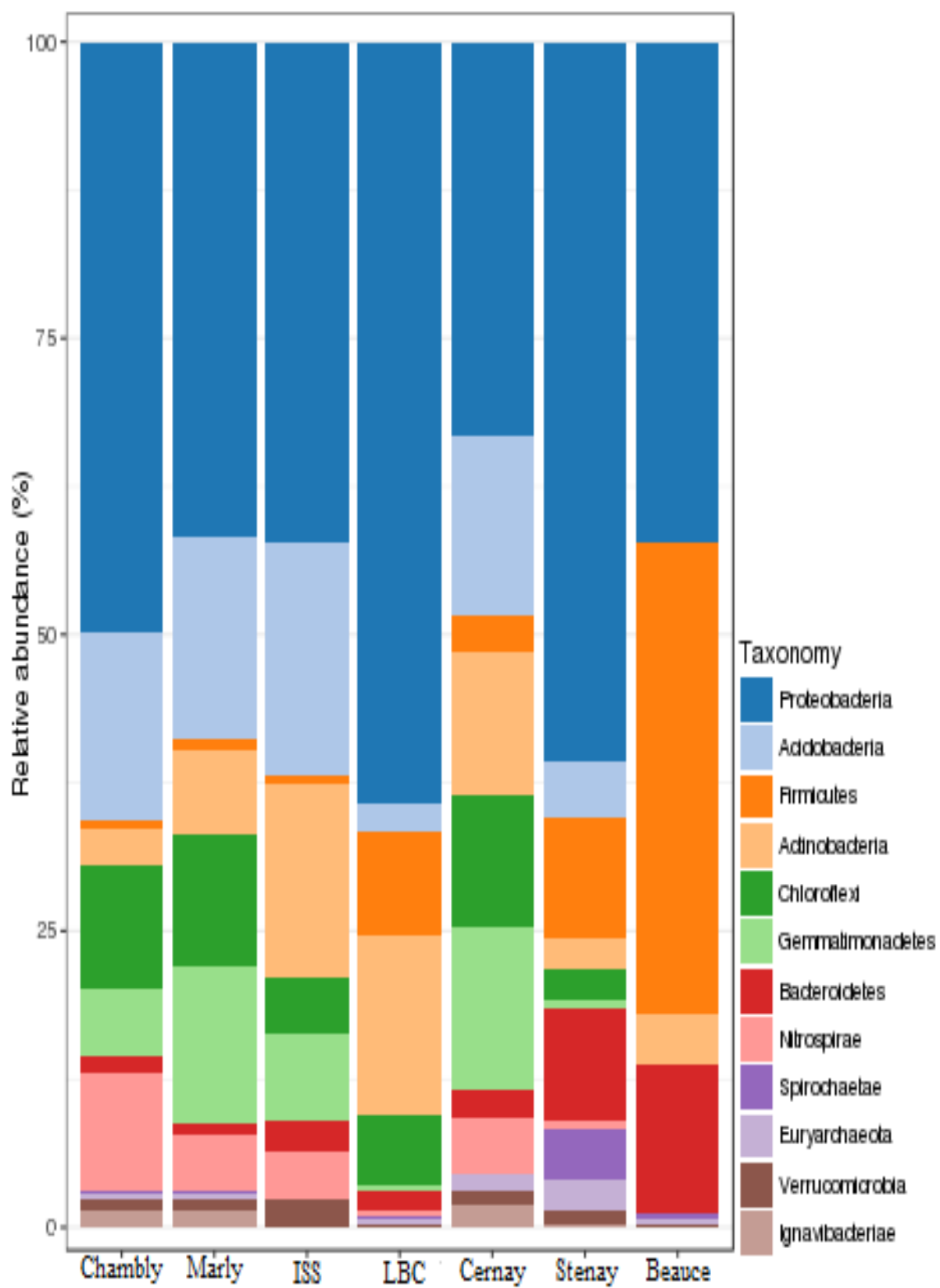


Fig. 33 - Abondance des phylums dans l'ensemble des échantillons (©Anaïs Augias).

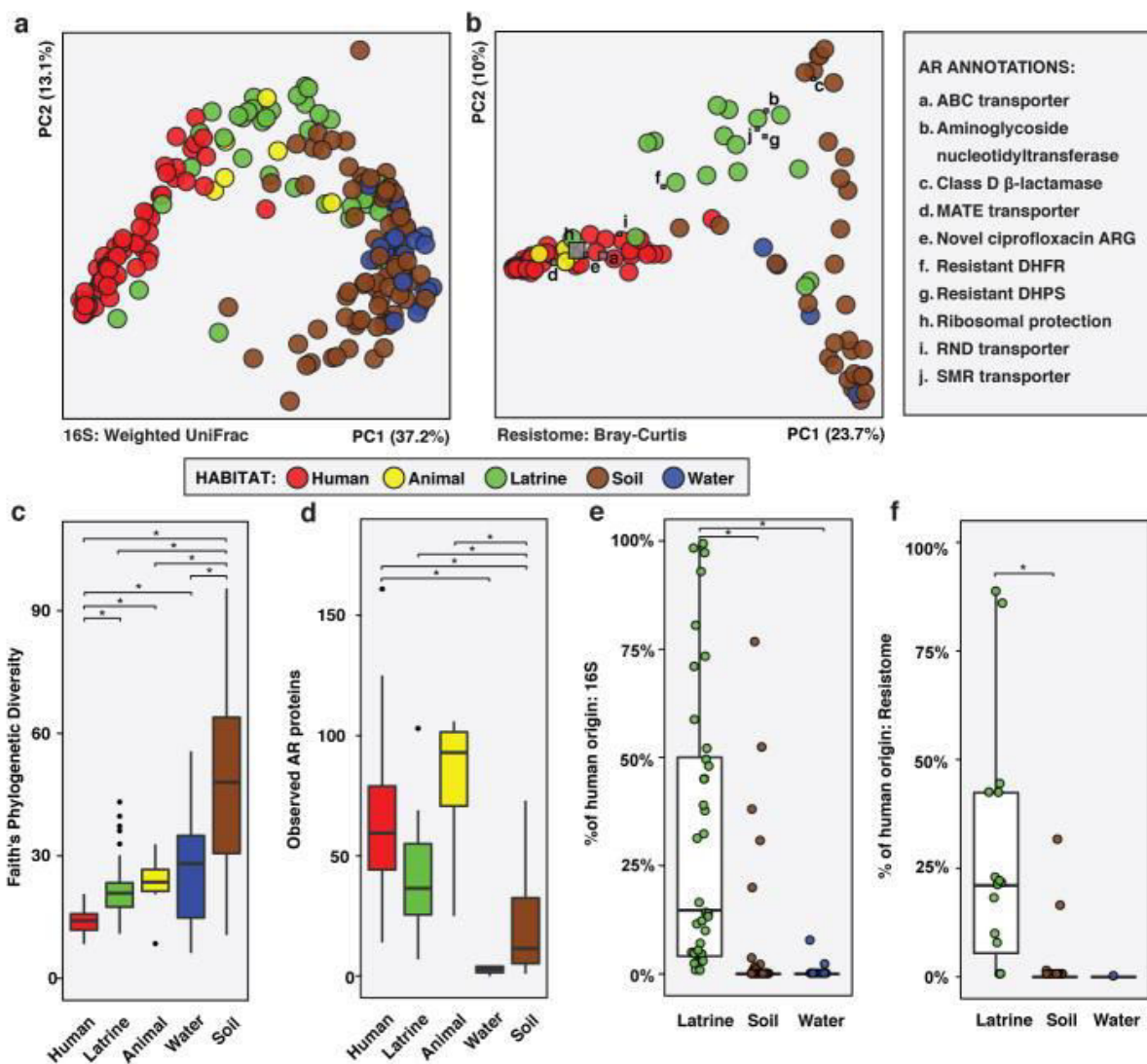


Fig. 35 - Salvadoran rural agriculturalist (RES) human fecal and environmental microbiota and resistomes (© Pehrsson E.C., *et al.* 2016²⁸⁸).

a,c,e, Phylogenetic composition (n = 60/6/36/84/22 for human/animal/latrine/soil/water).

b,d,f, Resistome (n = 42/4/16/30/4 for human/animal/latrine/soil/water). **a**, PCoA of weighted UniFrac distances between microbiota. Adonis R²=43.2%, p<0.001. **b**, PCoA of Bray-Curtis distances between resistomes with abundance-weighted coordinates of the top five most discriminative AR categories enriched in human or non-human habitats (squares, size proportional to overall abundance). Adonis R²=26.6%, p<0.001. **c-d**, *p<0.05, non-parametric Student's t-tests, Bonferroni correction. **c**, Faith's phylogenetic diversity. **d**, Observed AR proteins. **e-f**, Percentage of latrine, soil, and water **e**, microbiota and **f**, resistomes attributable to human feces, as determined by SourceTracker²⁹. *p<0.05, pairwise Wilcox tests, Bonferroni correction. Error bars = s.d., center bars = median.

²⁸⁸ PEHRSSON EC, TSUKAYAMA P, PATEL S., *et al.* Interconnected microbiomes and resistomes in low-income human habitats. *Nature* 2016 ; 533 : 212-216.

2.1.5 Contrôles qualitatif et quantitatif des lectures taxonomiques

Le séquençage et un premier contrôle bio-informatique de la qualité des échantillons et des manipulations ont été réalisés par Sean Kennedy (Institut Pasteur).

Le contrôle bio-informatique de qualité des échantillons a été fait au niveau de l'ordre taxonomique au moyen du logiciel SHAMAN et de l'annotation RDP *database* (Fig. 36). Cette première observation exprime un nombre important de lectures référencées dans la base de données, pour les trois méthodes, soit 9 665 788 lectures avancées (et le même nombre de lectures inversées). On note une faible présence des blancs prouvant ainsi qu'aucune contamination n'a eu lieu lors des manipulations de laboratoire. Toutefois, deux échantillons issus de sites de la Grande Guerre (1914-1918) montrent des résultats faibles ; « Le Bonnet Coton » (SER) et Cernay-lès-Reims (CLR3B). Pour la suite des observations, les blancs ainsi que les échantillons CLR3B ont été supprimés lors de la normalisation afin de ne pas fausser les résultats.

L'analyse en Coordination Principale (PCoA) montre une similitude entre les méthodes (Fig. 37) malgré une plus grande diversité dans les échantillons extraits avec les kits d'extraction ADN à partir du sol (Fig. 38). Ainsi, il ressort de ces premières observations que les kits d'extractions ADN à partir du sol devraient être préférés dans le cadre de futurs travaux. L'analyse PCoA des différents temps d'extraction ne montre, quant à elle, aucun effet significatif (Fig. 39), le troisième temps étant majoritairement représenté par les échantillons du site Stenay, expliquant cette variante.

La base de données RDP ayant fourni l'annotation la plus étendue mais la moins organisée, une analyse au niveau familial des taxons via la base de données *Silva* a été utilisée. Le graphique de raréfaction (Fig. 40) montre une profondeur de séquençage suffisante pour l'analyse taxonomique. Le nombre additionnel de caractéristiques identifiées avec le séquençage supplémentaires se stabilise pour la majorité des échantillons. Ainsi, lors des futurs travaux, 50K-100K lectures pourront être générées. Les indices de diversité (Fig. 41) montrent une importante diversité alpha* des espèces (indices Shannon* et Simpson*).

L'indice de diversité de Shannon montre cependant une légère baisse de la diversité avec, dans l'ordre décroissant ; les sites Warmerville (1914-1918), Chambly (XII^e-XIII^e siècles), Cernay-lès-Reims (1914-1918), « Le Bonnet Coton » (1914-1918), Marly (XVIII^e siècle), Beauce (2016) et de Stenay (1945-1946). Ainsi, les échantillons modernes (Beauce et Stenay) perdent en diversité d'espèces bactériennes et les échantillons de la Grande Guerre sont instables.

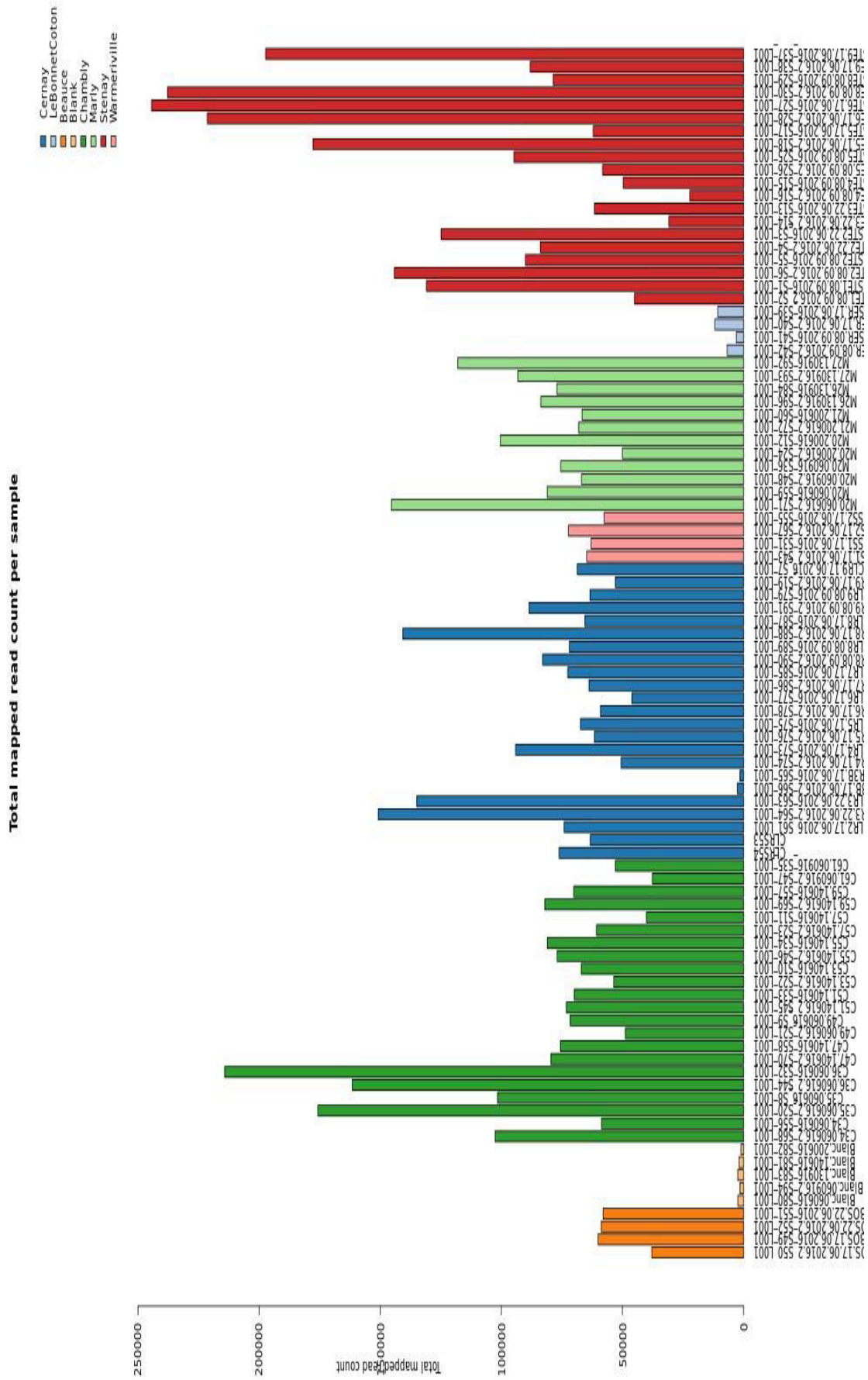


Fig. 36 - Qualité des échantillons, via l'annotation RDP database. (© Sean Kennedy).

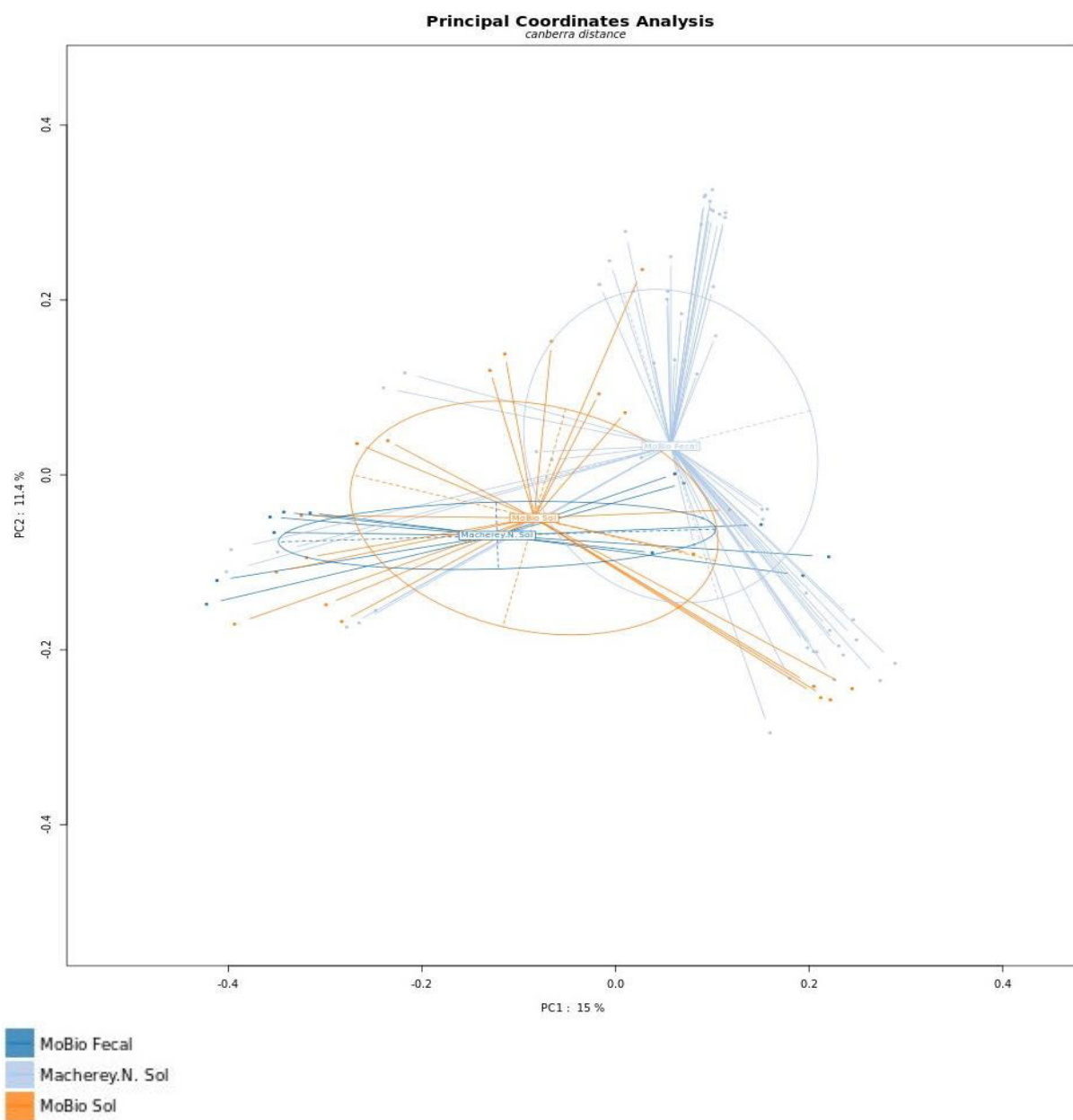


Fig. 37 - PCoA de variabilité du rôle des trois différents kits d'extraction ADN (© Sean Kennedy).

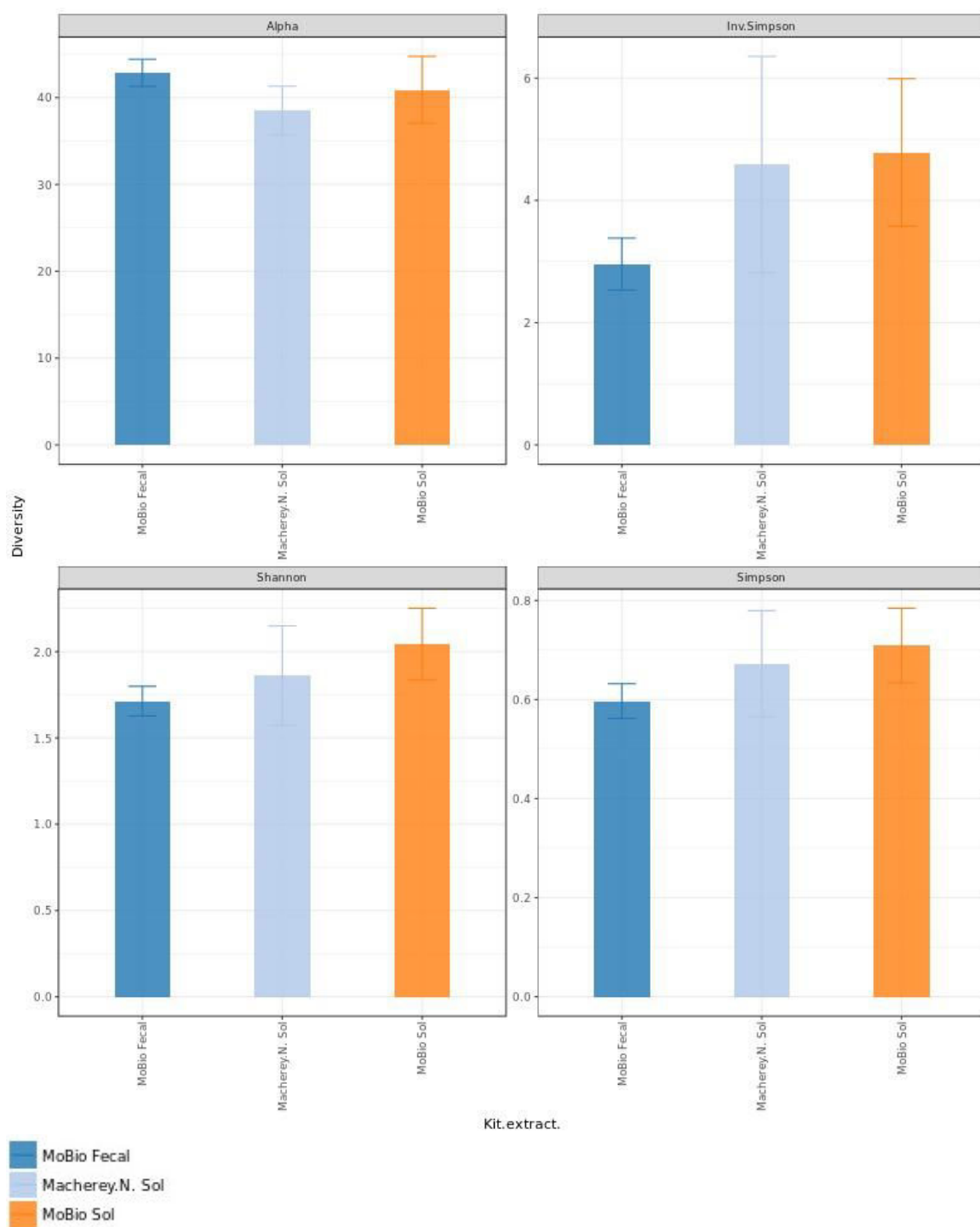


Fig. 38 - Variation de l'indice de diversité des kits d'extraction ADN (© Sean Kennedy).

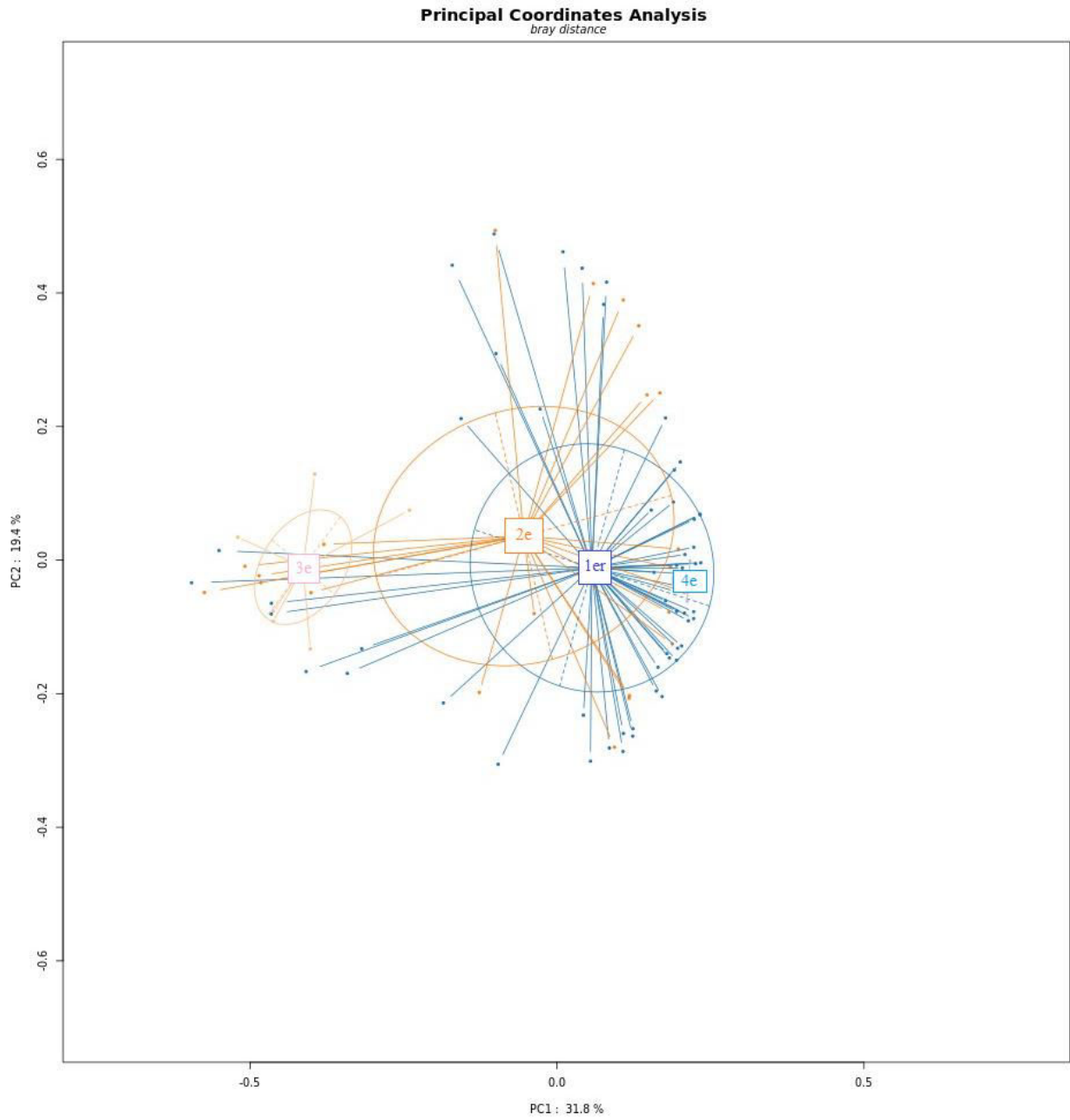


Fig. 39 - PCoA des effets des différents temps d'extraction ADN (© Sean Kennedy).

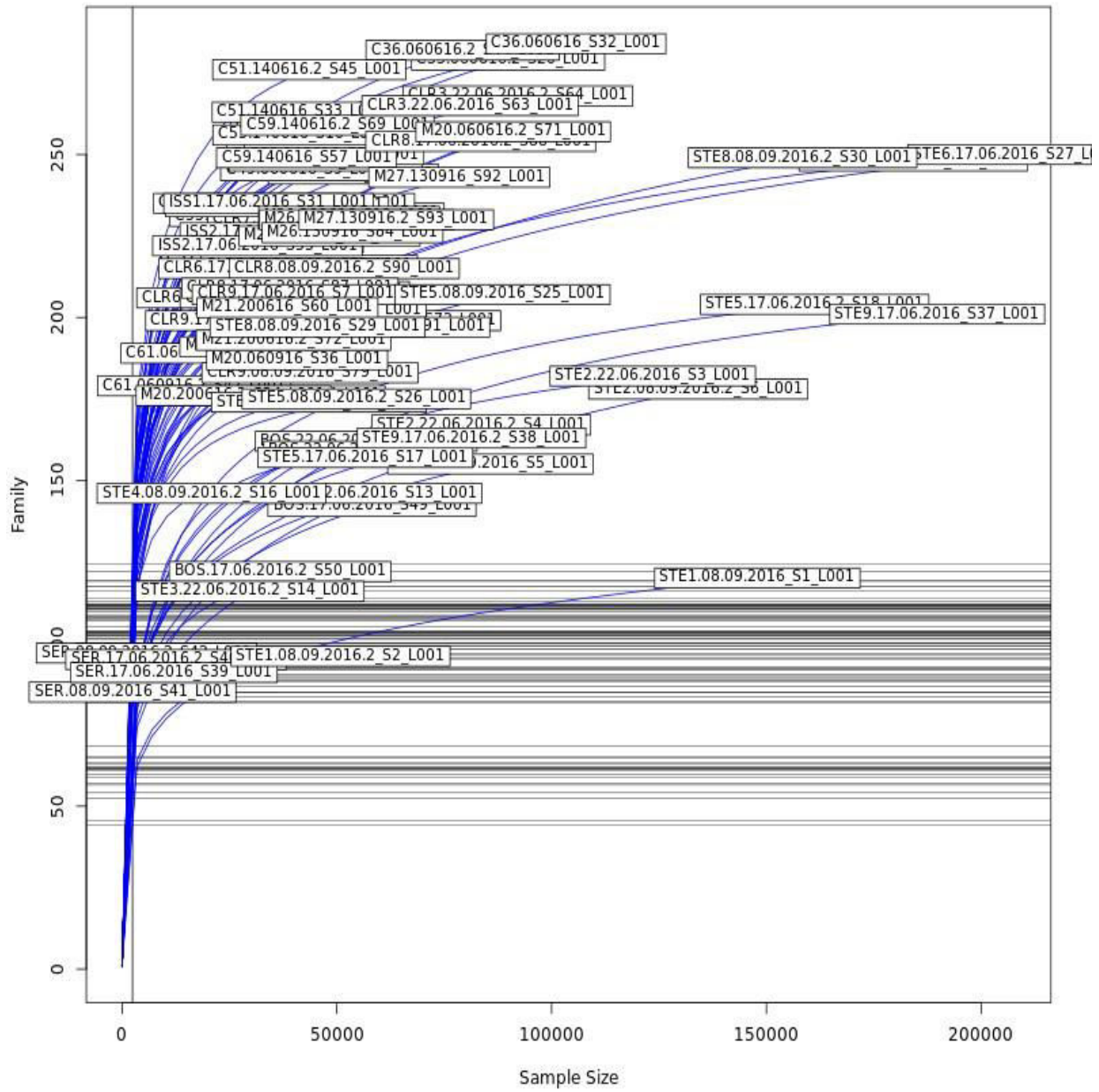


Fig. 40 - Graphique de raréfaction (© Sean Kennedy).

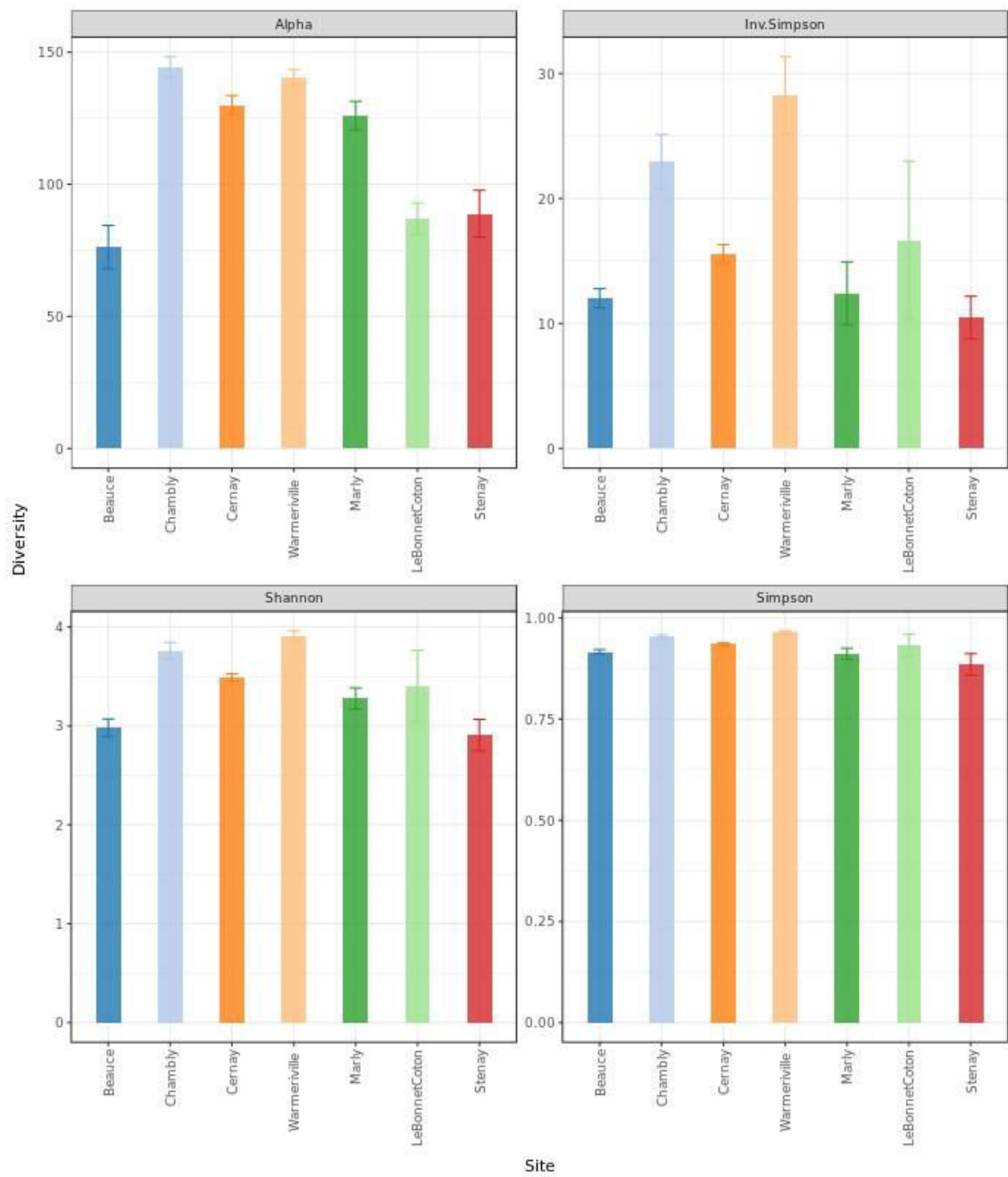


Fig. 41 - Variation de diversité des espèces (© Sean Kennedy).

Le PCoA des sites (Fig. 42) distingue trois groupes :

- Maison-forte de Chambly (XII-XIV^e siècles), Château de Marly (XVIII^e siècle) et Grande Guerre de Warmeriville (1914-1918),
- Grande Guerre de Cernay-lès-Reims (1914-1918),
- Grande Guerre de Sevron-Melzicourt (1914-1918), Camps de prisonniers allemands de Stenay (1945-1946) et Latrines actuelles de Beauce (2016),

Ces résultats pourraient aller dans le sens de mesures sanitaires prises lors de la Première Guerre Mondiale, ayant eu un impact sur la biodiversité.

Le séquenceur *MiSeq* montre une importante lecture OTU résultant de la présence de bactéries fécales mais également de sol. D'ordinaire, un choix aléatoire de lecture est entrepris mais cette démarche peut mener à la perte de beaucoup d'informations relatives à la spécificité microbienne qui nous intéresse. Le parti d'utiliser toutes les données est alors pris.

Principal Coordinates Analysis

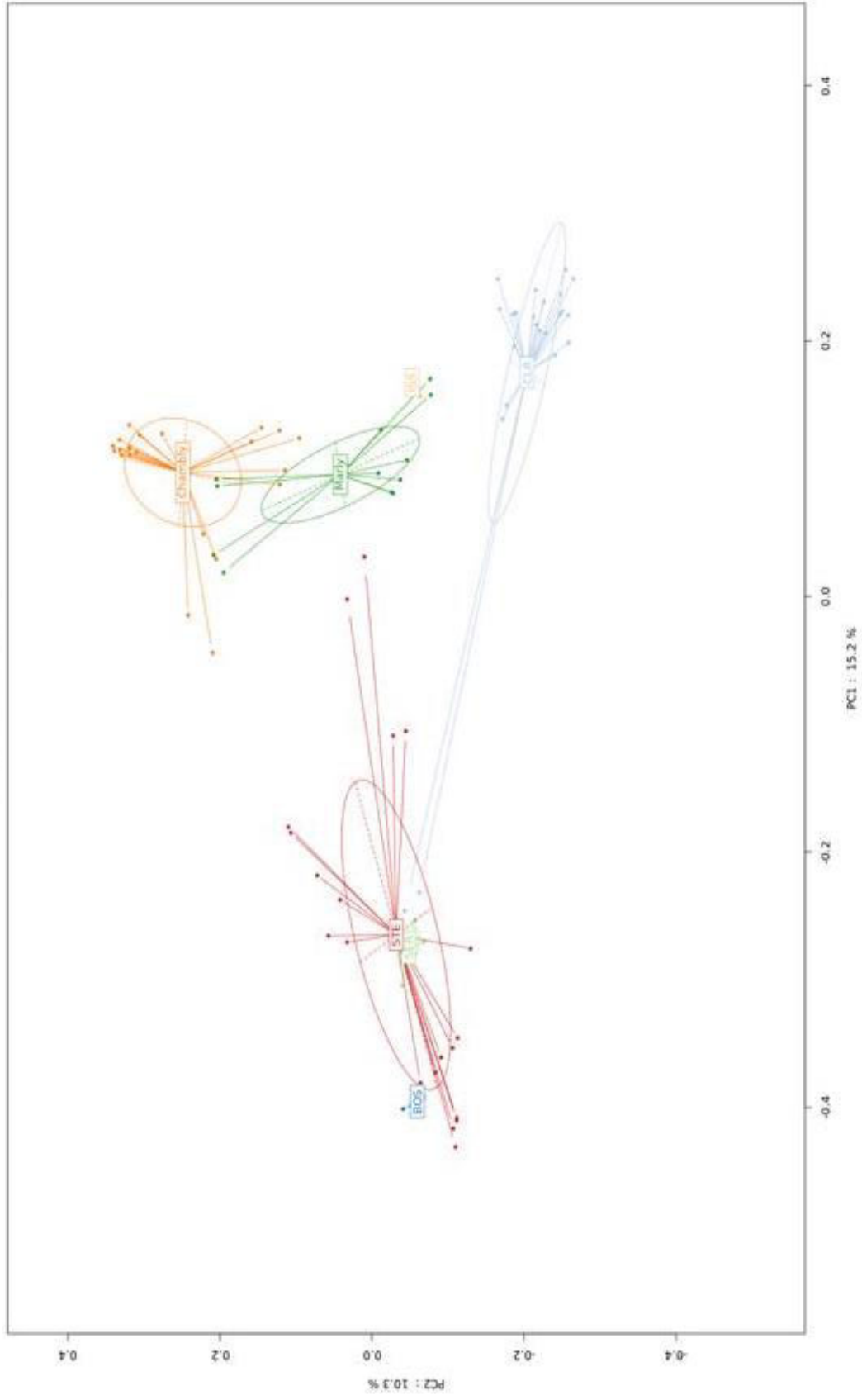


Fig. 42 - PCoA des échantillons latrinaires (© Sean Kennedy).

Un second contrôle analytique qualitatif et quantitatif des amplicons a été réalisé par Romain Laurent (MNHN)²⁸⁹.

La figuration de la répartition des longueurs de lectures avancées et inverses (Fig. 43 et 44) exprime une distribution trimodale pouvant résulter des indels* dans la région 16S des différentes espèces.

La comparaison avec les référentiels *Homo sapiens* et phiX174 (base de données génomique NCBI) montre que l'échantillon exprimant la contamination la plus élevée correspond à un blanc, avec seulement deux lectures relatives au génome humain. Aucune autre lecture n'étant alignée sur ces deux types d'espèces, toutes les lectures sont représentées à cette étape. L'étape de fusion des lectures appariées (*Flash*) a permis de fusionner en moyenne 90.69% des lectures par échantillon (gamme : 77,16% - 91,53%). Contrairement à la quasi-totalité des lectures (de 200pb) chevauchées attendues à ce stade, seul un nombre restreint de longues lectures (près de 17 000 lectures jusqu'à 398 pb) est engendrée. De ce fait, toutes les lectures supérieures à 200pb ont été supprimées via *cutadapt*. Ainsi, à la fin de l'analyse des séquences de l'ADN (QC), 8 249 491 lectures (soit 85,35% des données originales) sont conservées.

Comme le démontre le nombre total de lectures par échantillons (Fig.45), les blancs présentent un nombre bas de lectures comme attendu. Cependant, l'échantillon CLR3B (site de Cernay 1914-1918) ainsi que les échantillons SER (Le Bonnet Coton 1914-1918) expriment également un nombre bas de lectures et doivent être levés des prochaines étapes, confirmant les conclusions du premier contrôle.

Après la sélection d'OTU *de novo* via les paramètres par défaut du pipeline FROGS, un total de 8 785 OTU est obtenu.

²⁸⁹ D'après le rapport de LAURENT R. Report on latrine project. 19 Mai 2017.

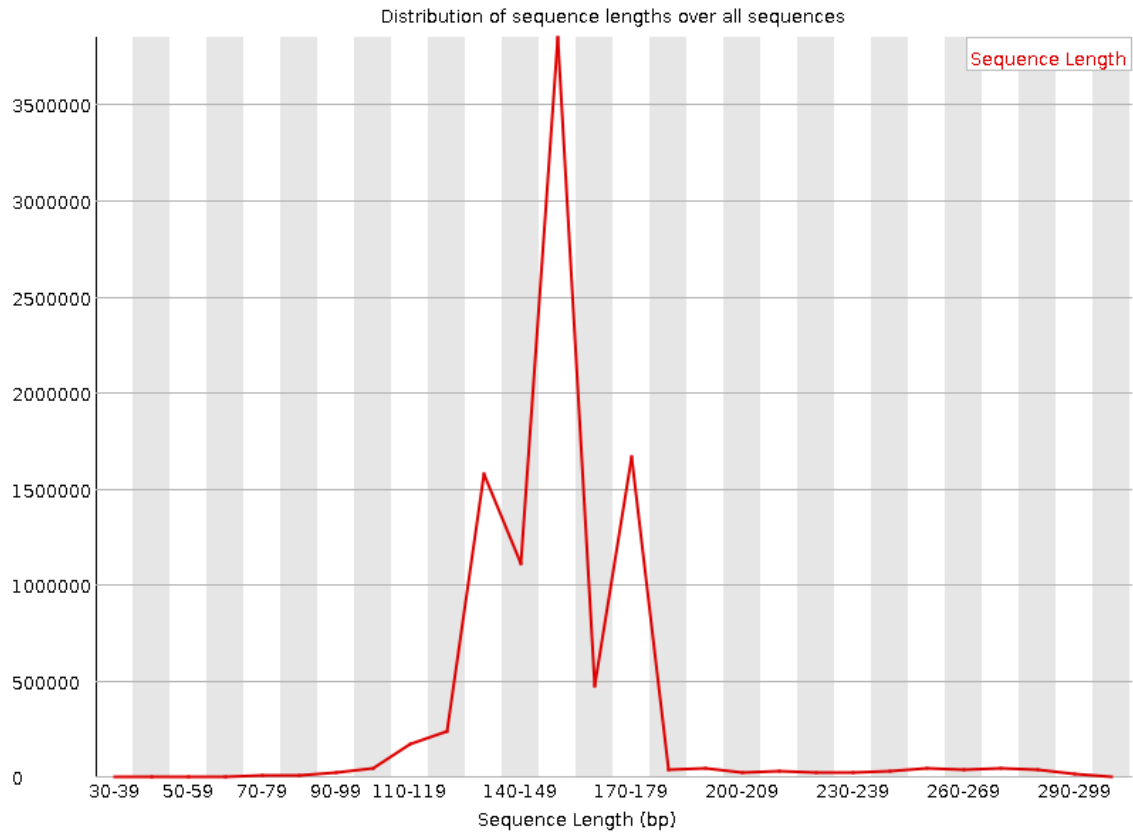


Fig. 43 - Répartition des longueurs de lectures avancées (© Romain Laurent).

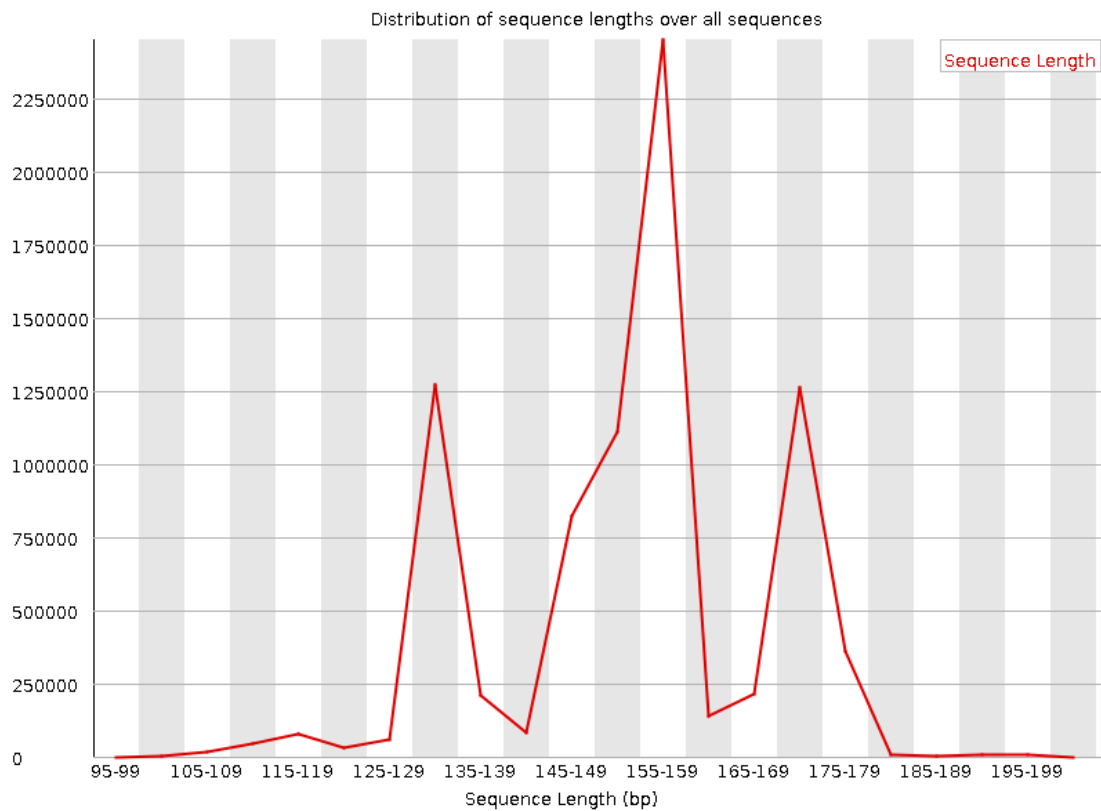


Fig. 44 - Répartition des longueurs avancées après l'analyse des séquences de l'ARN (© Romain Laurent).

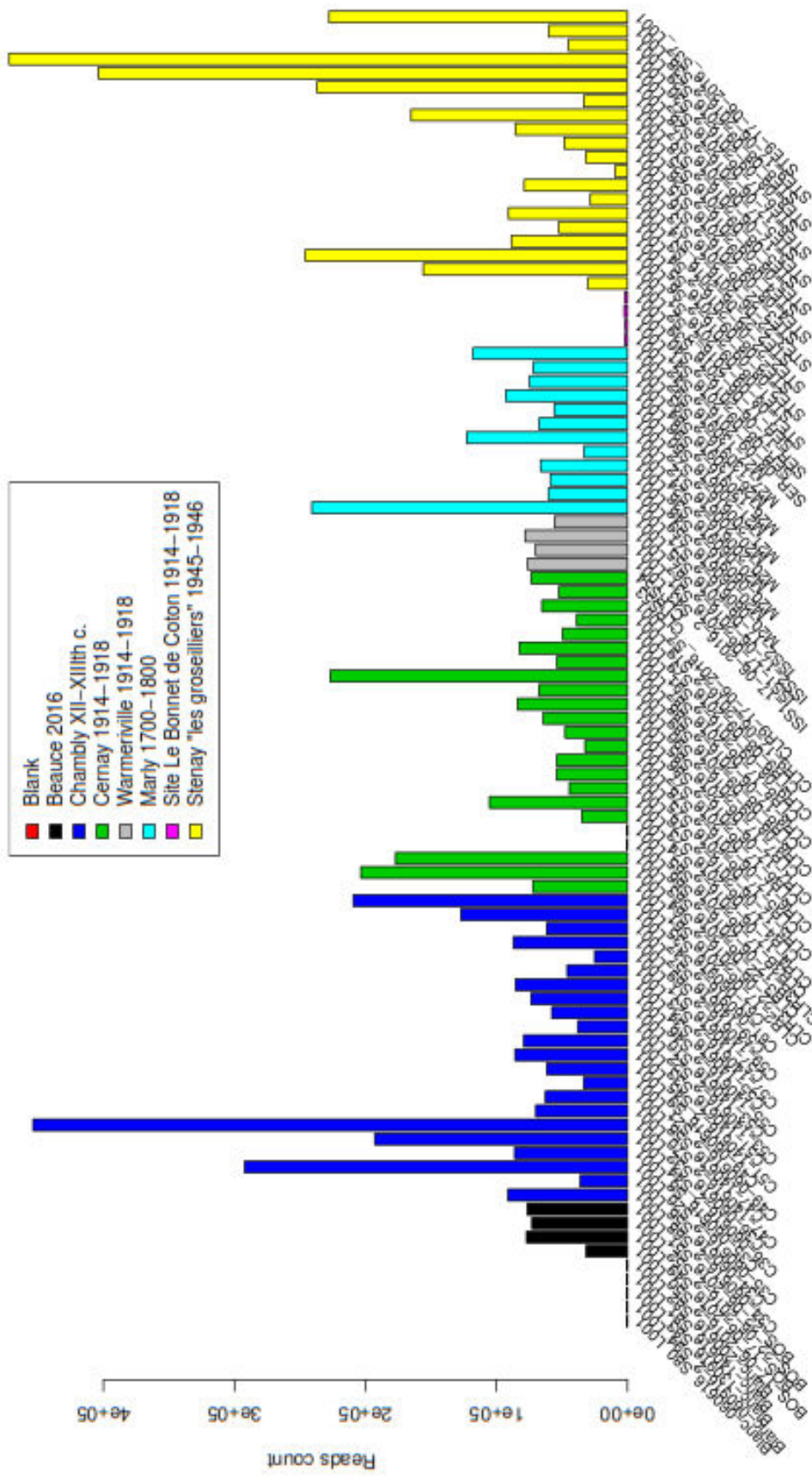


Fig.45 - Nombre total de lectures par échantillon après l'analyse des séquences de l'ARN (© Romain Laurent).

Dès lors, plusieurs analyses sont mises en place :

- une échelle multidimensionnelle (MDS) des distances de Bray-Curtis entre des échantillons de bonne qualité (pack phyloseq R)²⁹⁰,
- MDS analyse de Procrustes²⁹¹ (pack vegan R)²⁹²,
- test Mantel²⁹³

Il apparaît des résultats similaires, à savoir une grande majorité de ces 8 785 OTU représentés par un nombre de lectures faibles (Fig. 46) et seulement 376 OTU d'au moins 0.05% des lectures, lesquels ne vont pas dans le sens d'une importante présence d'OTU rares (dès lors filtrés).

Le regroupement avec les bases de données *Greengenes* (Fig. 47) et *Silva* (Fig. 48) exprime respectivement les nombres de 7 016 et 7 287 OTU et 399 et 369, si l'on ne considère que les lectures d'au moins 0.05%. Bien que les résultats avec les distances Bray-Curtis soient similaires, ceux avec les distances *UniFrac*, après création des échantillons composites (fusion des deux répliques par échantillon), présentent quelques différences non déterminées.

Pour cibler la région qui intéresse ce projet, à savoir le microbiote intestinal, un MDS des seuls OTU des phylums Firmicutes et Bacteroides (les plus abondants dans le microbiote fécal) est appliqué. Les résultats (Fig. 49) sont similaires aux précédents MDS.

Tout au long de ces différentes analyses, deux tendances se distinguent ; le regroupement des échantillons selon l'époque. Toutefois, l'abondance taxonomique différentielle des deux sites récents indique un biais (Fig. 50).

De plus, on note l'existence d'OTU privés (Fig. 51), à l'exception des échantillons individuels, signifiant un partage d'OTU privés entre les échantillons d'un même site et excluant la possibilité d'une erreur technique. Après le calcul des valeurs empiriques *p*, il apparaît un excès d'OTU privés dans les sites récents.

²⁹⁰ MCMURDIE P.J., HOLMES S. phyloseq : An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PLoS ONE* 2013 ; 8.

²⁹¹ WANG C., SZPIECH Z.A., DEGNAN J.H., *et al.* Comparing spatial maps of human population-genetic variation using Procrustes analysis. *Statistical Applications in Genetics and Molecular Biology* 2010 ; 9(13).

²⁹² OKSANEN J., BLANCHET F.G., FRIENDLY M. *et al.* Vegan : Community Ecology Package. R package version 2.4-3, 2017.

²⁹³ MANTEL N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research* 1967 ;27 : 209–220.

Associés, ces présences excessives (lectures taxonomiques et OTU privés) expliquent cette nette distinction entre sites anciens et récents.

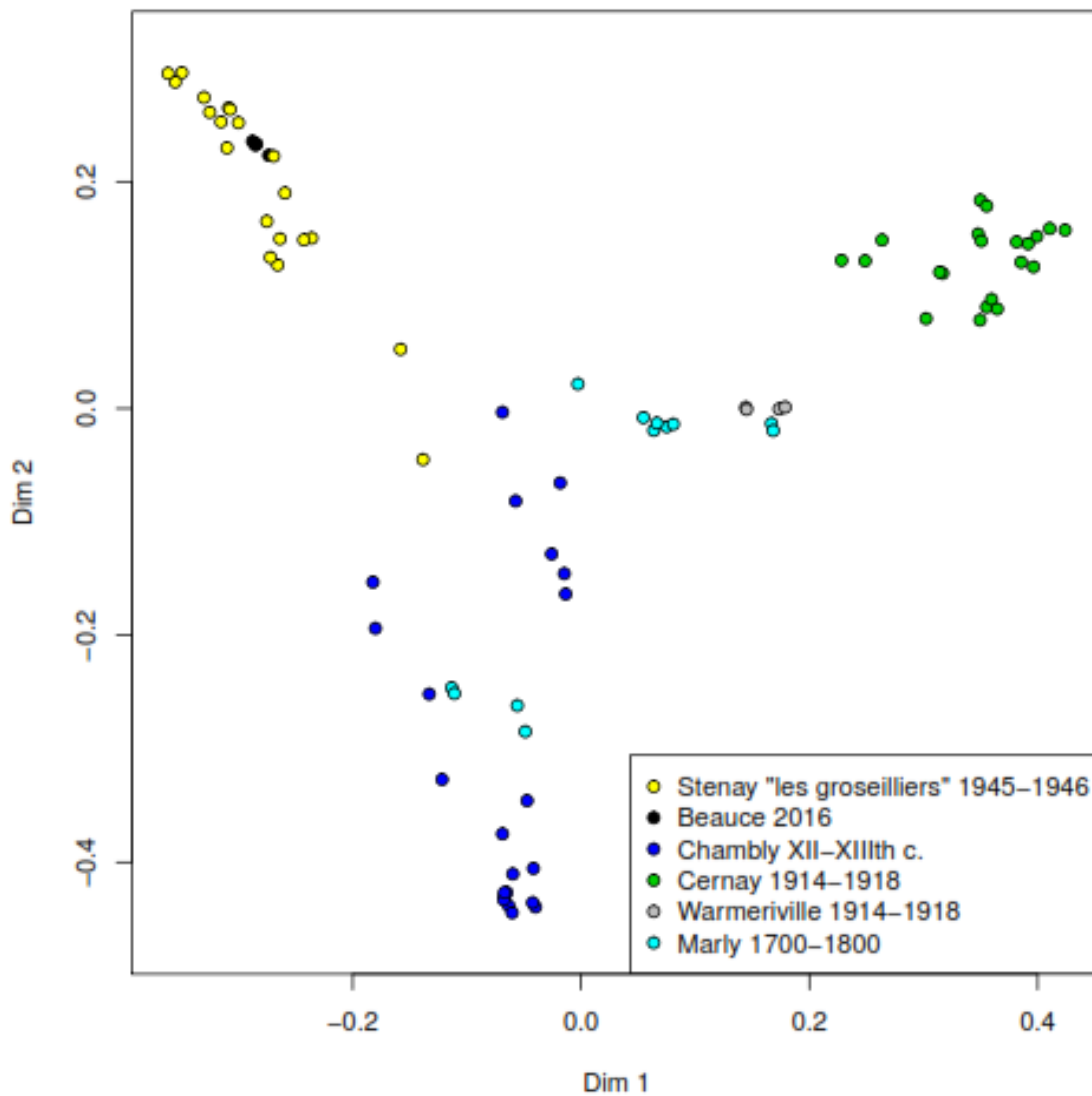
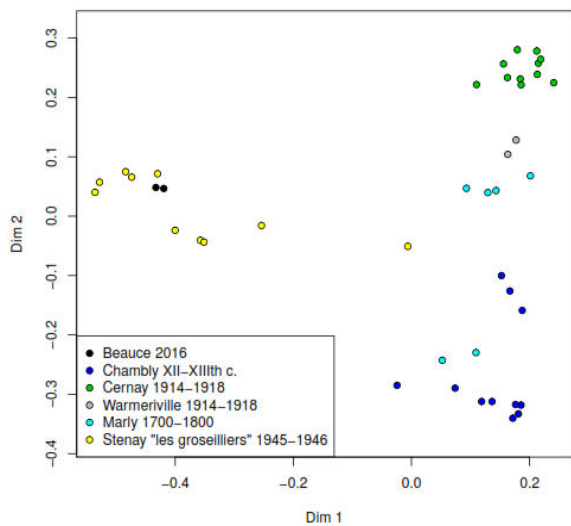
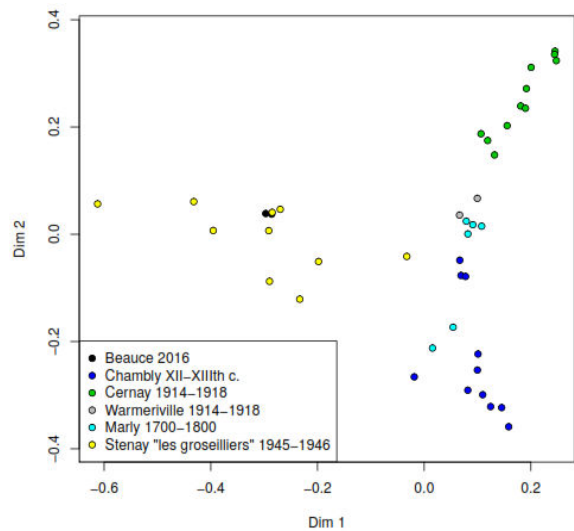


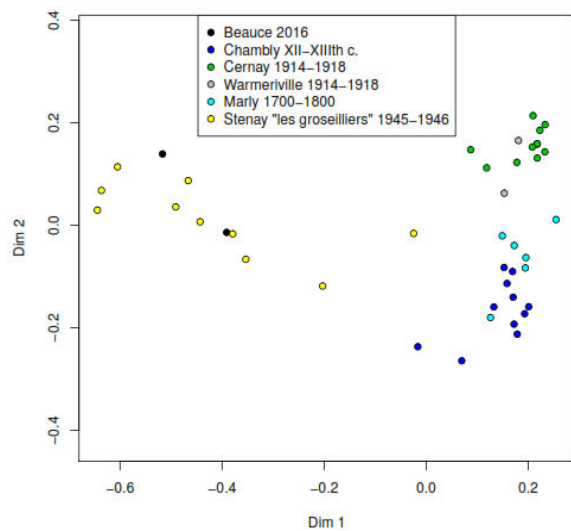
Fig. 46 - MDS basée sur les abondances (Bray-Curtis distance) obtenues par la sélection OTU *de novo* (© Romain Laurent).



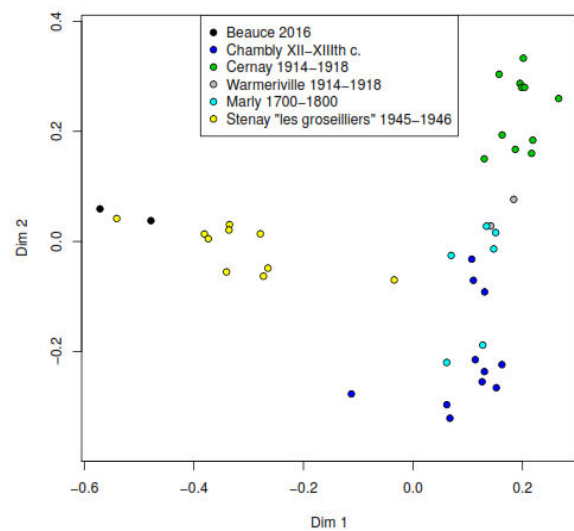
(a) All dataset, unweighted UniFrac



(b) All dataset, weighted UniFrac

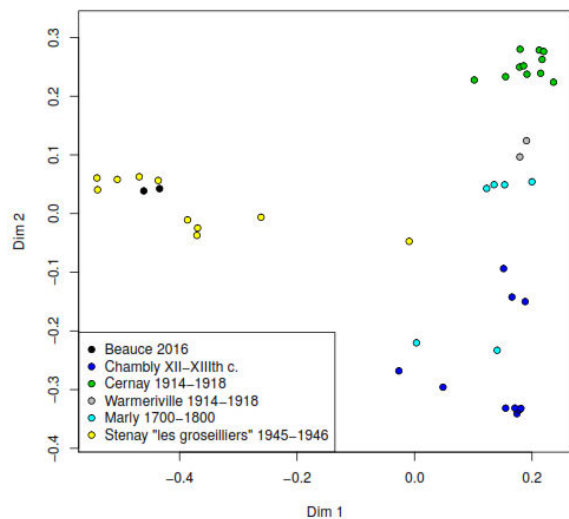


(c) Small dataset, unweighted UniFrac

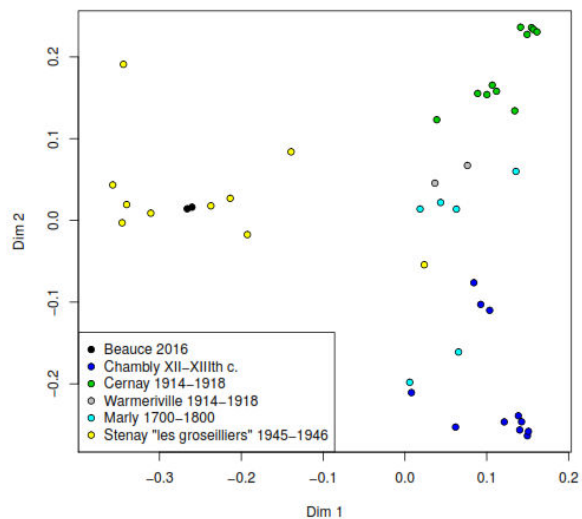


(d) Small dataset, weighted UniFrac

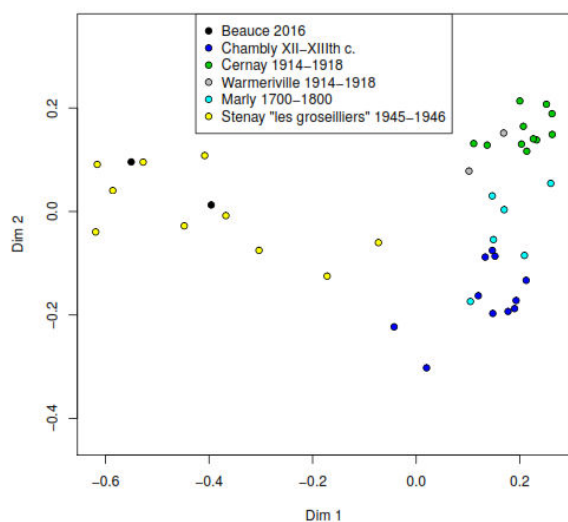
Fig. 47 - MDS du regroupement Greengenes. La première rangée correspond à l'ensemble complet des données, la deuxième rangée correspond uniquement aux OTU représentant au moins 0,05% des lectures. Le type de distance utilisée est indiqué sous chaque graphique. Par souci de comparaison, les graphiques ont été réunis pour avoir des orientations cohérentes (© Romain Laurent).



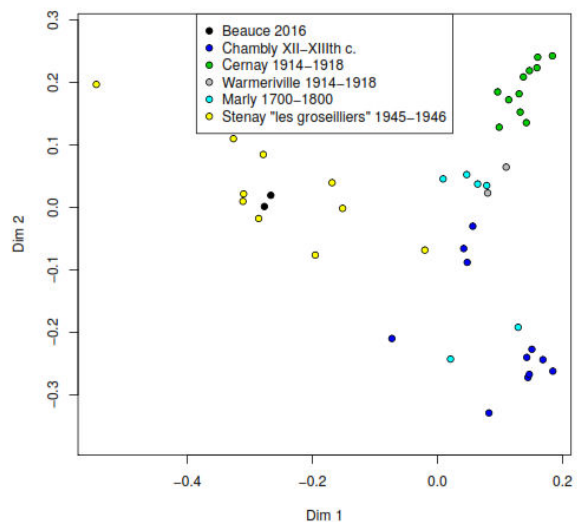
(a) All dataset, unweighted UniFrac



(b) All dataset, weighted UniFrac

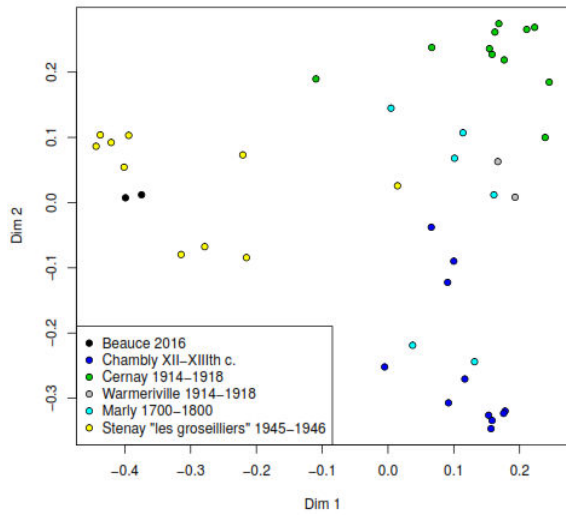


(c) Small dataset, unweighted UniFrac

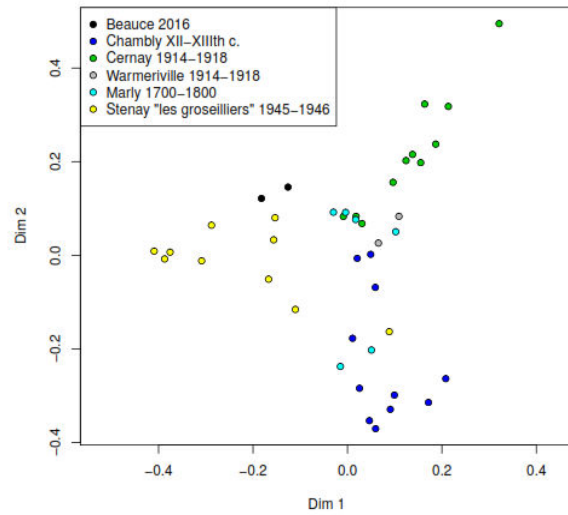


(d) Small dataset, weighted UniFrac

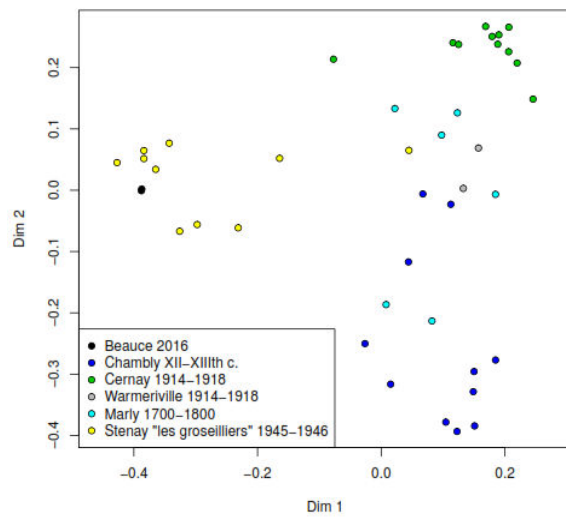
Fig. 48 - MDS du regroupement *Silva*. La première rangée correspond à l'ensemble complet des données, la deuxième rangée correspond uniquement aux OTU représentant au moins 0,05% des lectures. Le type de distance utilisée est indiqué sous chaque graphique. Par souci de comparaison, les graphiques ont été réunis pour avoir des orientations cohérentes (© Romain Laurent).



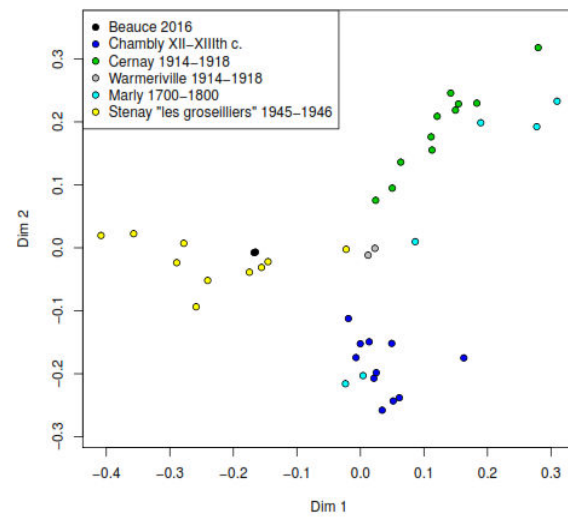
(a) S clustering, unweighted UniFrac



(b) S clustering, weighted UniFrac



(c) G clustering, unweighted UniFrac



(d) G clustering, weighted UniFrac

Fig. 49 - MDS de données contenant uniquement les phylums *Firmicutes* et *Bacteroidetes*. Par souci de comparaison, les graphiques ont été réunis pour avoir des orientations cohérentes (© Romain Laurent).

Site	G clustering	S clustering
Beauce 2016	20*	17*
Chambly XII-XIIIth c.	9	6
Cernay 1914-1918	11	11
Warmeriville 1914-1918	0	0
Marly 1700-1800	1	1
Stenay “les groseilliers” 1945-1946	124*	122*
Recent (post WWII)	186*	180*
Ancient (pre WWII)	106	115

Fig. 51 - Nombre d'OTU privés pour chaque site en considérant uniquement les phylums *Bacteroidetes* et *Firmicutes*. Les étoiles indiquent un excès significatif d'OTU privés ($p < 10^{-3}$) (© Romain Laurent).

Ces deux contrôles de qualité excluent définitivement une contamination lors des extractions ADN et de la PCR mais confirment l'importante contamination environnementale.

2.1.6 Résultats et discussion des données taxonomiques brutes

Les taxons environnementaux représentent ainsi une part majeure des lectures exprimées. Pour réaliser de premières observations sur ces résultats brutes, les phylums associés à cette contamination ont été ôtés, à savoir les Protéobactéries et Actinobactéries. Ainsi, le site contemporain de Beauce présente un profil similaire aux références publiées (Fig. 52 et 53).

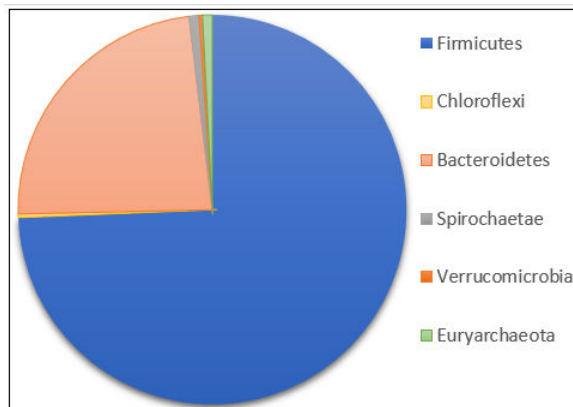


Fig. 52 - Composition du microbiome intestinal du site actuel de Beauce (©Anaïs Augias).

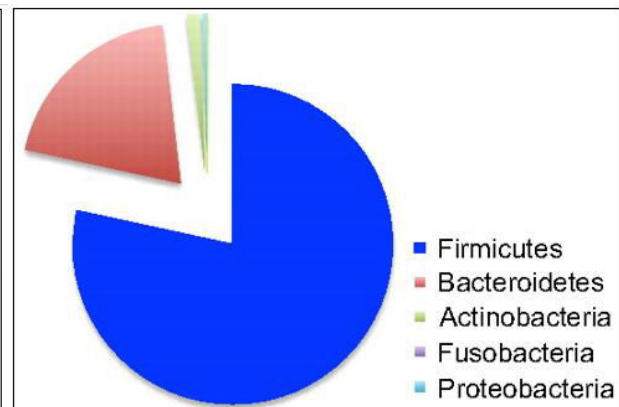


Fig. 53 - Mean Phylum abundances by body habitat – gut control (© Koren *et al.* 2010²⁹⁴).

En moyenne, les phylums les plus abondants dans le dépôt actuel sont les *Firmicutes* (74.2%) et les *Bacteroidetes* (23.4%), puis des traces d'*Euryarchaeota* (0.8%), de *Spirochaetae* (0.8%), de *Verrucomicrobia* (0.3%) et de *Chloroflexi* (0.3%). Les échantillons anciens et modernes expriment également la présence des phylums supplémentaires, lesquels ne peuvent pas être pris en compte.

Les représentations d'abondances taxonomiques des phylums, sans les Protéobactéries et les Actinobactéries (Fig. 54), puis des classes, des ordres, des familles et des gènes taxonomiques (Fig. 55) ne traduisent aucun indice quant à une évolution claire. Ces premières observations brutes ne sont alors qu'indicatives avant les prochaines étapes analytiques et ne peuvent être utilisées pour une quelconque interprétation.

²⁹⁴ KOREN O. et al. Human oral, gut, and plaque microbiota in patients with atherosclerosis. PNAS 2011 ; 108(1) : 4592-4598.

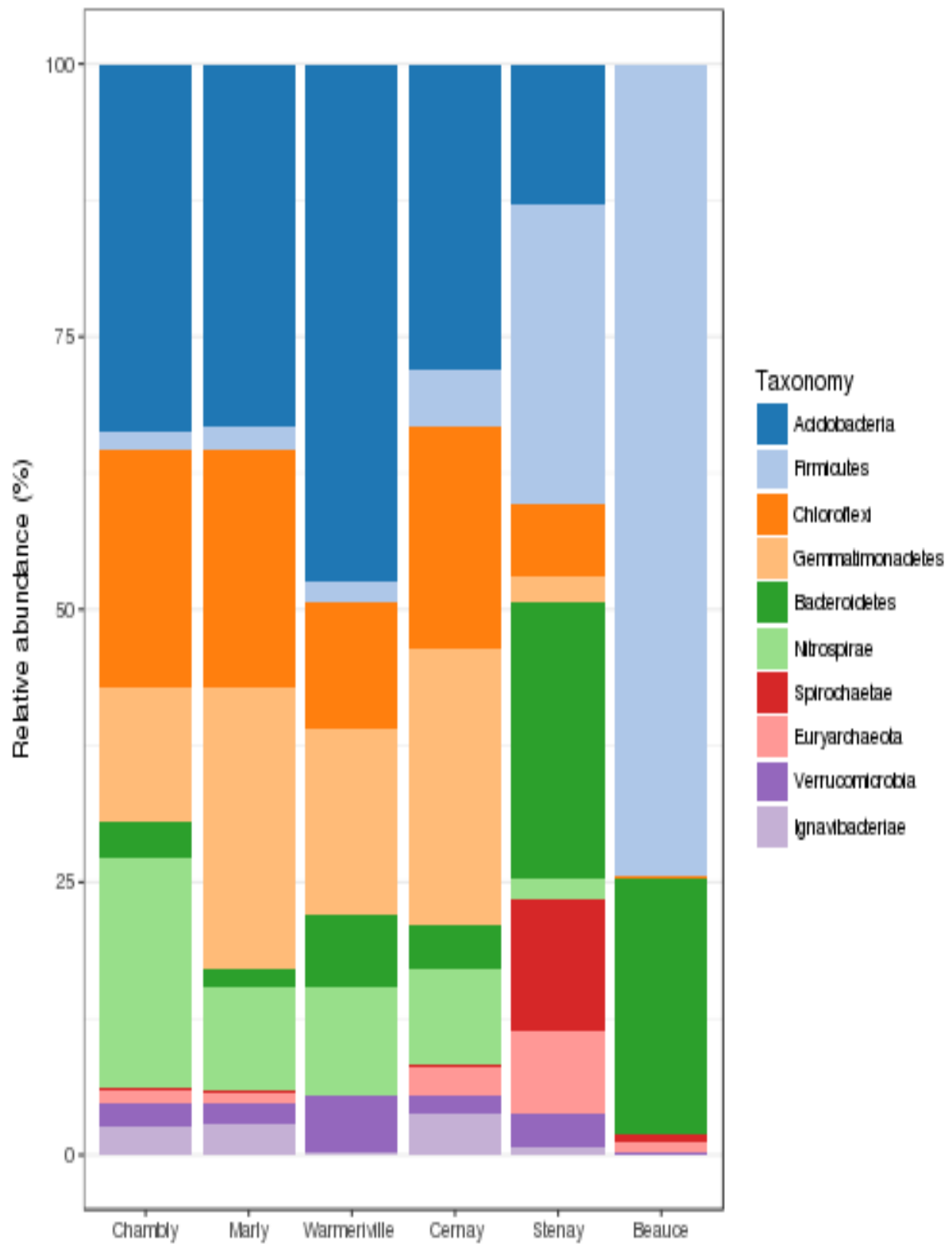


Fig. 54 - Abondance des phylums dans tous les échantillons, sans les Protéobactéries et les Actinobactéries (©Anaïs Augias).

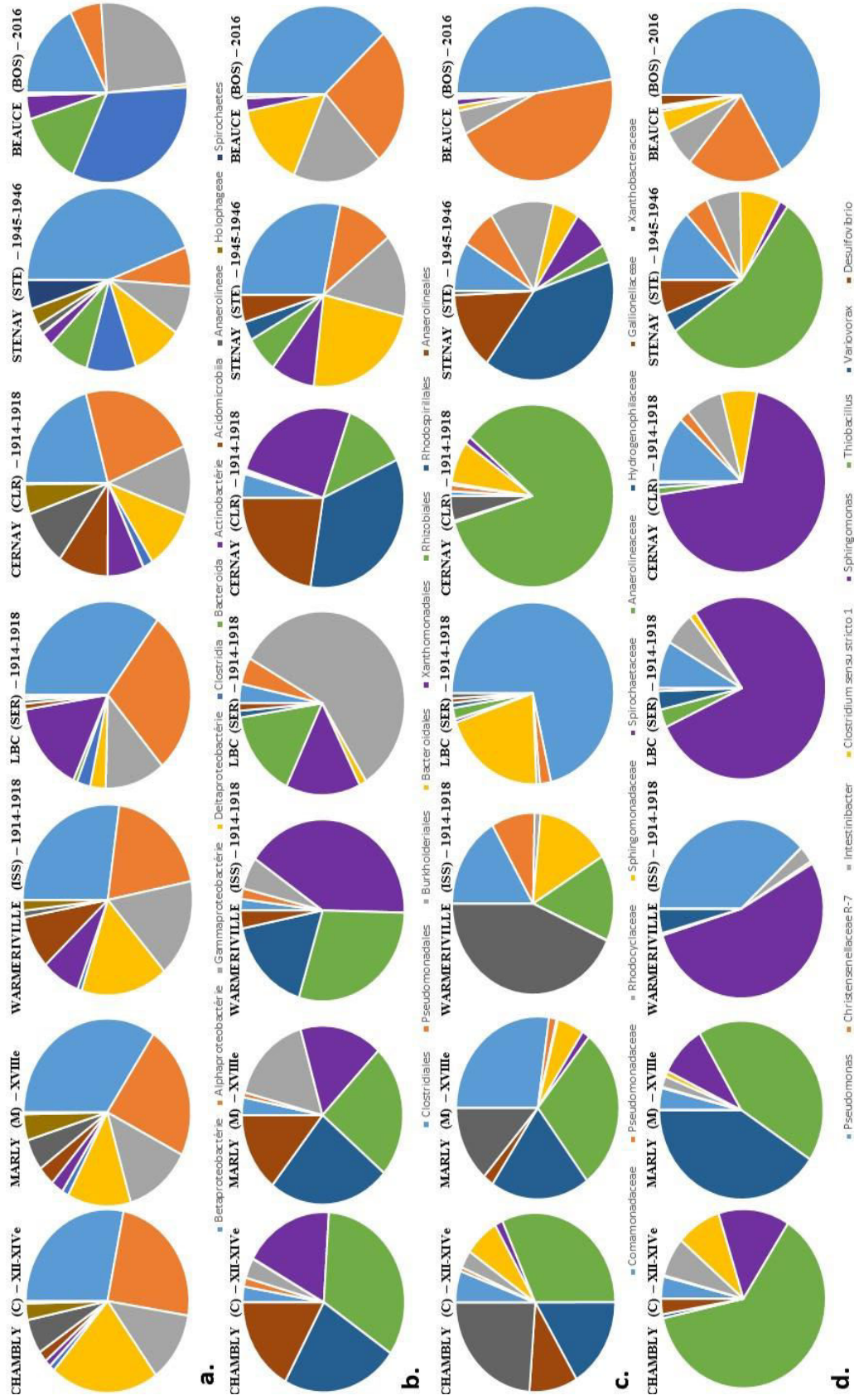


Fig. 55 – Abondances et répartition chronologique des taxons latrinaires **a.** des classes, **b.** des ordres, **c.** des familles, **d.** des gènes (©Anaïs Augias).

Si, à ce stade, ces résultats ne peuvent pas permettre des interprétations biologiques, ils peuvent offrir une vision taxonomique évolutive induite par la taphonomie.

En remonte le temps, on note une évolution chronologique fluide (Fig. 56) qui se caractérise logiquement par une diminution des anaérobies et une augmentation constante d'un seul aérobie, le *Chloroflexi*. Cette croissance a déjà fait l'objet d'observations de laboratoire, à partir de l'inoculation de sol sur plaques et en incubation²⁹⁵. Cette même observation dans le cas de dépôts latrinaires pourrait étendre la colonisation généralisée de cette bactérie à ce milieu particulier traduisant une domination du sol sur les fèces voire une transformation des fèces en sol, malgré certains contextes clos et maçonnés. Au contraire, la présence de *Firmicutes* et des *Bacteroidetes* (composants majoritaires des fèces humaines) régresse.

Bien qu'il soit impossible de proposer une interprétation biologique évolutive, de nombreux taxons, tels que les bactéries pathogènes, pourraient toutefois être soulignés car possiblement caractéristiques.

²⁹⁵ DAVIS K.E., SANGWAN P., JANSSEN P.H. Acidobacteria, Rubrobacteridae and Chloroflexi are abundant among very slow-growing and mini-colony-forming soil bacteria. *Environ Microbiol* 2011 ; 13(3) : 798-805.

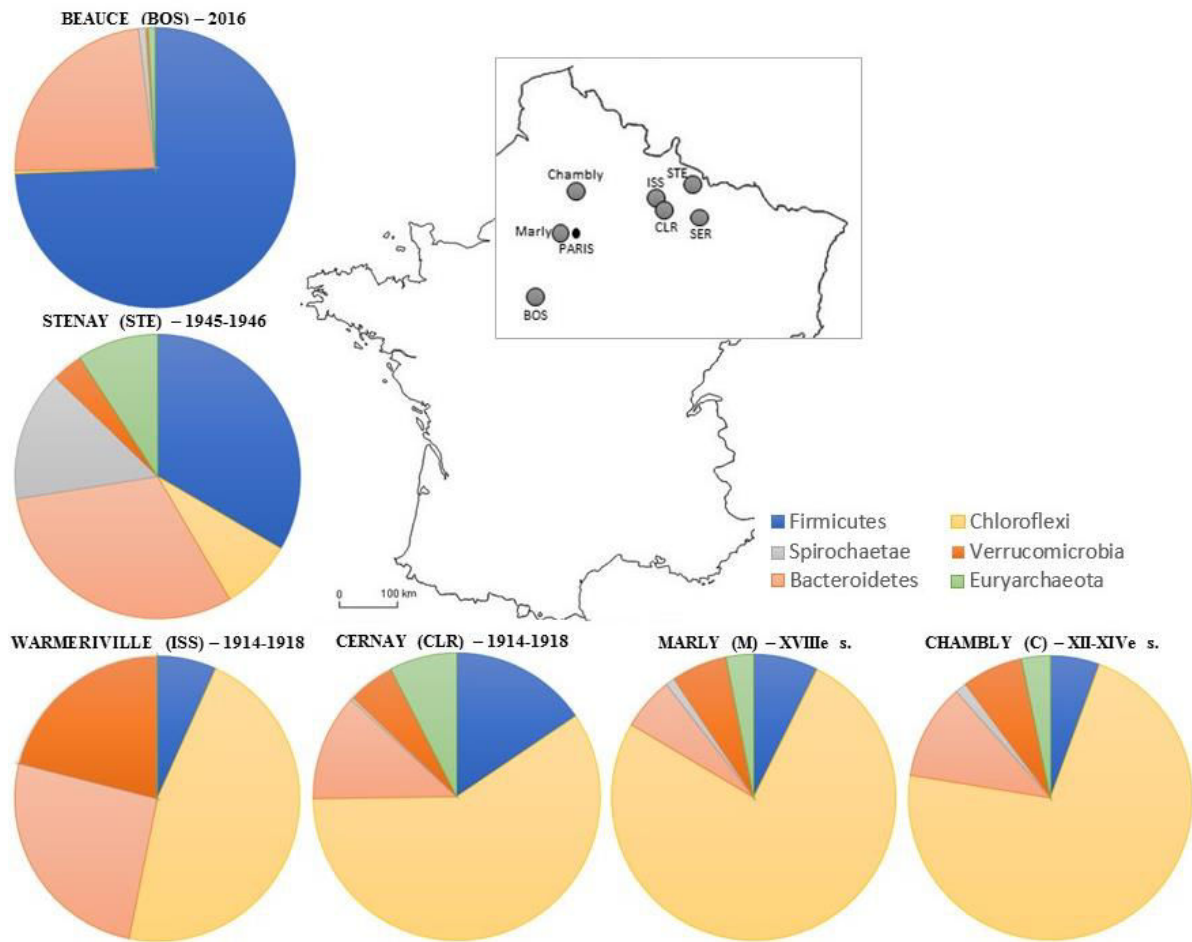


Fig. 56 - Répartition spatiale, chronologique et phylogénique des échantillons latrinaires. Les protéobactéries et actinobactéries ainsi que le site « Le Bonnet Coton » ont été ôtés (©Anaïs Augias).

Des bactéries pathogènes et antibiorésistantes (Fig. 57) peuvent déjà être observées et caractériser de fortes atteintes, notamment par leur présence différentielle.

L'analyse bio-informatique, à partir des bases de données *Silva* et *Greengenes*, révèle des bactéries pathogènes concentrées sur les dépôts latrinaires des deux guerres et du château de Marly. Les taux faibles à moyens de *Clostridium (botulinum, perfringens et tetani)* peuvent d'avantage être caractéristiques d'une contamination du sol que d'une atteinte pathogénique de l'hôte humain. Bien que la consommation de boîtes de conserve soit attestée dans les contextes de guerre, les faibles lectures de *Clostridium botulinum* ne peuvent pas être prises en compte dans une potentielle interprétation sanitaire. Toutefois, la présence différentielle de *Clostridium perfringens* dans les dépôts de Stenay (1945-1946) pourrait indiquer des gangrènes gazeuses parmi les prisonniers allemands. Il en est de même pour les *Clostridium tetani*, lesquels sont uniquement exprimés dans les dépôts de guerre et de Marly. Alexander Fleming avait déjà mis en évidence des *Clostridium tetani* chez les soldats blessés de la première guerre mondiale²⁹⁶.

Les *Pseudomonas*, et plus particulièrement les *Pseudomonas andersonii*, se retrouvent sur le site de Warmeriville (ISS) mais surtout sur le site de Marly, traduisant de possibles infections chroniques²⁹⁷ telles que des fibroses kystiques²⁹⁸, des granulomes pulmonaires²⁹⁹ ou des ostéomyélites³⁰⁰. Des *Haemophilus parainfluenzae* sont retrouvés dans le site de Stenay (23), lesquelles peuvent être isolées dans la salive et peuvent indiquer une maladie pulmonaire³⁰¹ ou une infection de l'urètre et du gland.

²⁹⁶ FLEMING A. On the bacteriology of septic wounds. *The Lancet* 1915 ; 186(4803) : 638-643.

²⁹⁷ D'ARGENIO V, TORINO M, PRECONE V *et al.* The Cause of Death of a Child in the 18th Century Solved by Bone Microbiome Typing Using Laser Microdissection and Next Generation Sequencing. Cho WC, ed. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017 ; 18(1) : 109.

²⁹⁸ MCCARTHY K. *Pseudomonas aeruginosa*: Evolution of antimicrobial resistance and implications for therapy. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2015 ; 36 : 44-55.

²⁹⁹ SIMMON KE, FANG DC, TESIC V *et al.* Isolation and Characterization of "*Pseudomonas andersonii*" from Four Cases of Pulmonary Granulomas and Emended Species Description. *Journal of Clinical Microbiology* 2011 ; 49(4) : 1518-1523.

³⁰⁰ AYDIN N, ŞIRIN E, AYDEMIR AN, ZENGİN G. *Pseudomonas osteomyelitis* of the proximal humerus after arthroscopic rotator cuff repair. *Acta Orthop. Traumatol. Turc.* 2014 ; 48 : 685-689.

³⁰¹ MITCHELL JL, HILL SL. Réponse immunitaire à *Haemophilus parainfluenzae* chez les patients atteints de maladie pulmonaire obstructive chronique. *Laboratoire de diagnostic clinique et immunologique*. 2000 ; 7(1) : 25-30.

	Chambly	Marly	Warmeriville	LBC	Cernay	Stenay	Beauce
Bases de données <i>Silva-Greengenes</i>							
BACTERIES PATHOGENES							
<i>Clostridium botulinum</i>	2	1	0	0	1	4	0
<i>Clostridium perfringens</i>	0-6	0-3	0-2	0	0-1	0-79	0-6
<i>Clostridium tetani</i>	0	0-13	0-19	0	0-20	0-15	0
<i>Pseudomonas andersonii</i>	1	56	12	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	0	5	6
<i>Salmonella enterica</i>	0	0	0	0-24	0	0	0
BACTERIES ANTIBIORESISTANTES							
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	0	0	0	0	0	2
<i>Klebsiella pneumonia</i>	0	0	0	0	0	1	0
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	0	5	6
<i>Enterobacter spp.</i> <i>Cronobacter sakazakii</i>	0	0	0	23	0	0	0
<i>Serratia spp.</i>	0	0	0	9	0	0	0
<i>Proteus spp.</i>	0	0	0	5	0	0	0
<i>Campylobacter</i>	0	0	0	0	0	29	0
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1	0	0	2	0	23	0
<i>Staphylocoque epidermidis</i>	10	1	0	360	1	0	0
<i>Acinetobacter guillouiae</i>	1	0	0	60	1	0	222

Fig. 57 - Liste des bactéries pathogènes humaines (d'après ©123bio.net d'après *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*) suivie de la liste des antibiorésistants jugés prioritaires par l'OMS ou non (espèces potentiellement pathogènes) et leurs présences dans le corpus ancien et récent étudié et lu à partir du logiciel SHAMAN et des bases de données *Silva* et *Greengenes* (©Anaïs Augias).

On note également la présence sur le site de la Seconde Guerre d'*Alcaligènes faecalis* (9 lectures OTU), qui sont des bactéries, retrouvées dans les selles, les sols, l'eau mais également en milieux hospitaliers suite à une chirurgie, et provoquant des infections cutanées³⁰², des septicémies et des infections urinaires et qui s'avère être antibiorésistantes.

On observe également des traces d'*Escherichia coli* et un taux mineur d'*Acinetobacter guillouiae* sur les sites de « Le Bonnet Coton » et de Beauce, pouvant aller dans le sens d'une antibiorésistance³⁰³. Bien que la représentation d'antibiorésistants soit minime, ces bactéries sont uniquement visibles dans les dépôts modernes et son développement mondial est considéré comme dangereux par l'OMS³⁰⁴.

En plus de ces bactéries, on retrouve dans les dépôts de Chambly la présence d'archées *Trichocephalida* (14 lectures OTU), confirmant ainsi l'atteinte intestinale par ces nématodes des usagers des latrines.

En parallèle, bien que les bactéries environnementales ne soient pas directement concernées par cette étude du microbiome, certaines présences taxonomiques du sol peuvent nous renseigner sur l'impact anthropique de cette médicalisation outrancière. Quelques bactéries communes du sol, à l'image du pathogène *Pseudomonas syringae*, sont ainsi visibles. Cette bactérie est exprimée dans chacun des sites, mais est en forte augmentation dans les deux sites les plus récents. Cette présence différentielle peut s'expliquer par l'apparition de nouvelles maladies chez certains fruits à l'image de l'épidémie de chancre bactérien du melon, de la tomate, de l'olivier ou du kiwi^{305,306} et d'une résistance végétale aux antibiotiques. Bien que cette présence montre une utilisation environnementale des

³⁰² TENA D., FERNANDEZ C., LAGO M.R. *Alcaligenes faecalis* : an Unusual Cause of Skin and Soft Tissue Infection. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 2017 ; 68(2) : 128-130.

³⁰³ YOON E.J. et al. Origin in *Acinetobacter guillouiae* and Dissemination of the Aminoglycoside-Modifying Enzyme Aph(3')-VI. *mBio* 2014 ; 5(5).

³⁰⁴ OMS. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. *Essential medicines and health products*. Genève, 2017.

³⁰⁵ BARTOLI C et al. A framework to gauge the epidemic potential of plant pathogens in environmental reservoirs : the example of kiwifruit canker. *Molecular Plant Pathology* 2014 : 1-13.

³⁰⁶ CUNTI A. Caractérisation de *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* l'agent responsable de l'émergence d'une épidémie de chancre bactérien du kiwi en France et description de *Pseudomonas syringae* pv. *actinidifoliorum*, agent causal de taches foliaires sur kiwi. *Phytopathologie et phytopharmacie*. Université d'Angers, 2015.

antibiotiques, il n'y a toutefois pas de prévue d'une possible interaction avec des pathogènes ou la résistance humaine.

Sur le site « Le Bonnet Coton », une représentation différentielle des bactéries *Salmonella enterica* et staphylocoque *epidermidis* est soulignée. Cette dernière, bactérie commensale de la flore cutanéomuqueuse, bien que souvent non pathogène, peut être impliquée dans diverses pathologies telles que des infections urinaires, cutanées et nasales. Elle peut également être antibio-résistante et nosocomiales chez des sujets immunodéficients³⁰⁷. Ces différents taxons sur le site de « Le Bonnet Coton », dont la qualité a précédemment été identifiée comme faible, prouvent, à eux seuls, le biais existant.

³⁰⁷ PEBRET F. *Maladies infectieuses : toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales et paramédicales*. Paris, Heures de France, 2003.

2.2 Bilan préliminaire parasitologique

Dans ce premier temps analytique, il est précoce de proposer une interprétation microbienne évolutive mais il est possible de confirmer la possibilité de récupération des bactéries anciennes issues de l'intestin humain par le biais prélèvements latrinaires et donc leur emploi possible dans des hypothèses médicales contemporaines, à l'instar de la théorie hygiéniste, puis dans la compréhension taphonomique de la dégradation de l'ADN et des bactéries humaines.

Les résultats phylatiques bruts pourraient exprimer une évolution chronologique avec des proportions en augmentation et une diversité en baisse (Fig. 58). Ces observations, ainsi que les résultats toxicologiques, peuvent trouver une explication dans l'environnement.

Seuls les résultats méthodologiques ont pu donner des résultats sûrs grâce aux outils bio-informatiques, à savoir une contamination importante des dépôts par des micro-organismes environnementaux. En effet, les analyses bio-informatiques vont dans le sens d'une influence taphonomique majeure sur la préservation du microbiote intestinal issu de latrines avec une modification taxonomique dans les dépôts. Ces contraintes ont déjà été mises en évidence lors d'une étude récente sur l'étude du microbiote oral néandertalien, laquelle a démontré la non-représentativité des données taxonomiques 16S, due au biais environnemental, et l'apport majeur de l'amplification massive (*Shotgun*)³⁰⁸.

Concernant la présence d'éléments chimiques, on observe une présence stable du mercure (Hg) et de l'arsenic (As), une présence croissante du plomb (Pb) et du Lithium (Li) puis un pic d'argent (Ag) sur le site de Marly et de bismuth (Bi) sur le camp de prisonniers allemands. Seules ces deux dernières observations peuvent aller dans le sens d'une possible médication, visant respectivement à traiter les maladies infectieuses et les atteintes abdominales et psychiatriques.

À contexte égal (accès limité à l'hygiène, à l'eau potable, etc.), les résultats de la microscopie vont dans le sens d'une atteinte parasitaire majoritaire dans les époques anciennes. Toutefois, aucune conclusion en ce sens ne peut être émise compte tenu de l'observation, dans d'autres études, d'une même faune parasitaire dans les contextes de

³⁰⁸ WEYRICH L.S. *et al.* Neanderthal behaviour, diet, and disease inferred from ancient DNA in dental calculus. *Nature* 2017 ; 544 : 357-361.

guerre^{309,310}. La présence d'ankylostome dans les latrines du camp de prisonniers allemands pourrait, quant à elle, être caractéristique d'une absence potentielle de néo-pathologie d'un ou des usagers des latrines. En effet, de récentes études montrent le rôle salvateur de certains helminthes parasites pour soigner les nouvelles pathologies, à l'image de l'ankylostome pour la maladie de Cœliaque³¹¹. Dans l'optique de la thérapie helminthique, le traitement, non pas par l'ingestion des vers parasites, mais par l'isolation des éléments curatifs de ces parasites pourraient alors être envisagée, permettant ainsi au système immunitaire de se concentrer sur de réelles menaces au lieu d'attaquer les éléments sains par l'absence de *stimulus*.

Sur ces premières données, de futures manipulations ciblées seront mises en place.

Dans un second temps analytique, la priorité sera d'identifier les métaux lourds puis les bactéries et les parasites du sol des couches stratigraphiques actuelles et de l'époque des échantillons latrinaires (par le biais de carottages archéologiques), afin d'écarter ces résultats des futures réflexions, afin d'uniquement se concentrer sur l'aspect médical et le microbiome humain. Puis, une amplification massive (*Shotgun*) sera entreprise sur la totalité des prélèvements. Une fois les bactéries intestinales de l'hôte humain ciblées, il sera également possible d'établir le processus de décomposition taxonomique en contexte latrinaire. En *post-mortem*, de récentes études ont mis en évidence une augmentation taxonomique du microbiome durant le processus de décomposition d'un cadavre humain en contexte médico-légal^{312,313}.

³⁰⁹ LE BAILLY M., LANDOLT M., BOUCHET F., « First World War German Soldier Intestinal Worms : An Original Study of a Trench Latrine in France ». *Journal of Parasitology*, 2012 ; 98(6) : 1273-1275.

³¹⁰ LE BAILLY M., LANDOLT M., MAUCHAMP L., DUFOUR B. Intestinal Parasites in First World War German Soldiers from "Kilianstollen", Carspach, France. *PLoS ONE* 2014 ; 9(10).

³¹¹ CROESE J., *et al.* Experimental hookworm infection and gluten microchallenge promote tolerance in celiac disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2015 ; 135(2) : 508-516.

³¹² PECHAL J.L., SCHMIDT C.J., JORDAN H.R., BENBOW M.E. Frozen : Thawing and Its Effect on the Postmortem Microbiome in Two Pediatric Cases. *Journal of forensic sciences* 2017.

³¹³ HYDE E.R., *et al.* The living dead : Bacterial community structure of a cadaver at the onset and end of the bloat stage of decomposition. *PLoS One* 2013 ; 8(10).

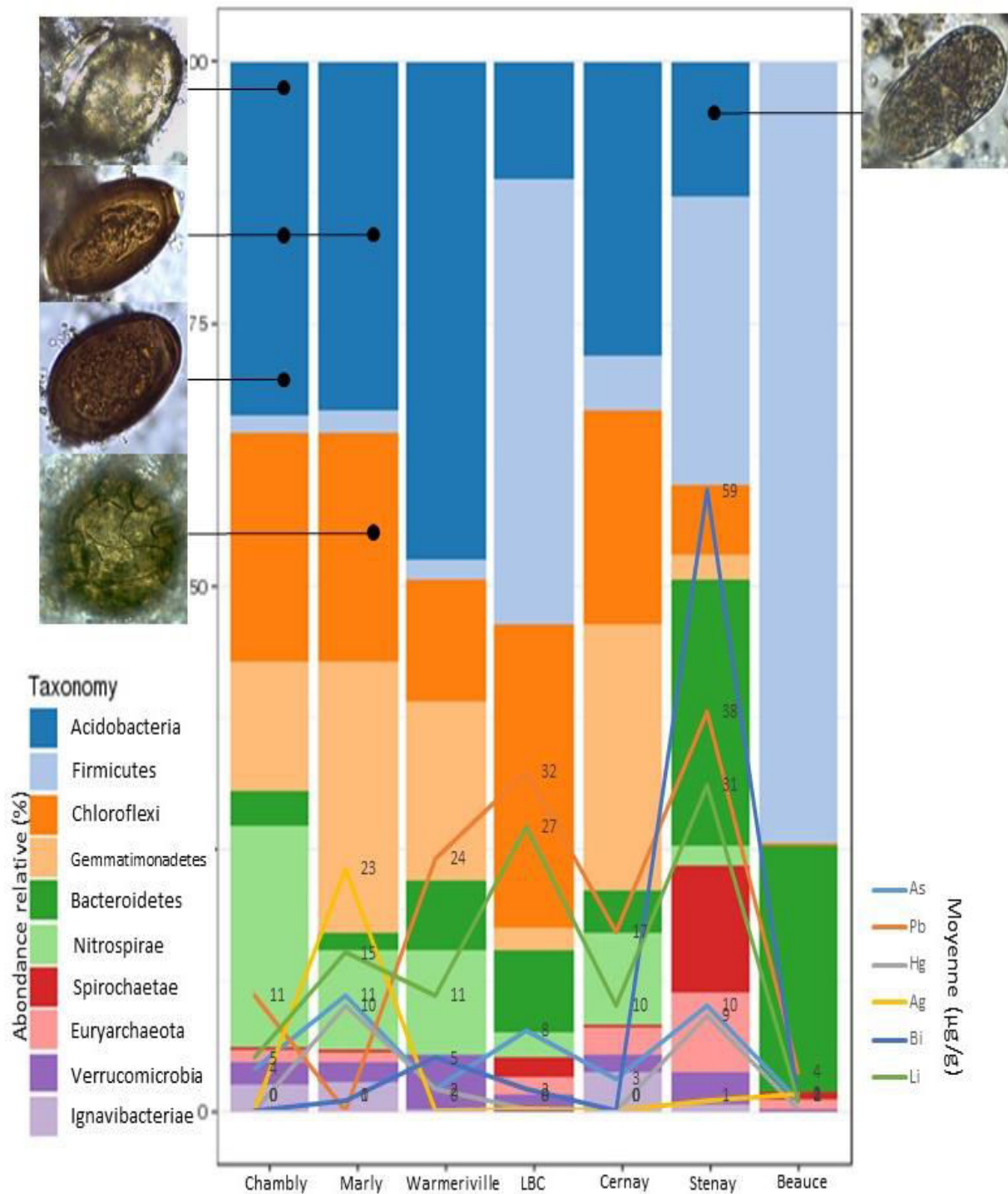


Fig. 58 - Bilan corrigé des analyses élémentaires (sans la contamination au plomb pour les échantillons du Château de Marly due au mobilier associé), phylums (sans les Protéobactéries et les Actinobactéries caractéristiques du sol et de l'eau) et de microscopie optique (© Anaïs Augias).

Les études microbiennes tendent à se poursuivre avec la mise en place d'études coprologiques et l'acquisition de nouveaux prélèvements latrinaires, mis à disposition par les services archéologiques ; latrines de la Maladrerie Saint-Lazare de Beauvais (XIII^e et XIV^e siècles), du château de Chambord (XVI^e siècle), d'une cave parisienne (XVII^e siècle), de l'Hôtel-Dieu de Valenciennes (XVII^e et XVIII^e siècles) ou de la gare de Pecq (XIX^e siècle).

La démarche parasitologique pourrait s'étendre au tartre dentaire et/ou molaire et au sédiment abdominal et coxal des inhumations afin, à terme, de se systématiser et permettre une vision globale.

Appliquer le modèle évolutionniste à la médecine moderne, par le biais de supports archéologiques (tartre dentaire, coprolithe, latrines, biopsie intestinale post-mortem sur momies), aiderait à la compréhension sanitaire contemporaine en établissant la genèse microbienne et la micro-évolution génétique³¹⁴. En effet, l'archéologie étant l'étude des civilisations du passé, aide à comprendre la naissance, l'évolution et la mort de populations anciennes ainsi que leur impact économique et social sur notre présent et futur³¹⁵. Comme toute population, les maladies dont l'Homme est l'hôte apparaissent, évoluent, interfèrent les unes avec les autres et meurent, et ce suivant le contexte environnemental.

³¹⁴ BOUWMAN A., RÜHLI F. Archaeogenetics in evolutionary medicine. *Journal of Molecular Medicine* 2016 ; 94(9) : 971-977.

³¹⁵ DJINDJIAN F. Le rôle de l'archéologue dans la société contemporaine. *Diogène* 2010 ; 1 : 229-230.

Conclusion

Les disciplines scientifiques liées à l'étude des restes humains (squelettisé, momifié, en solution fixatrice, frais) se répondent et leur union systématique apparaît nécessaire pour servir les problématiques d'études interdisciplinaires grâce à une vision à long terme visant à considérer l'être humain dans son ensemble (environnement, au passé individuel et commun). Restreindre l'étude d'un matériel biologique aux seules méthodes de sa discipline serait alors en limiter la compréhension.

Au-delà de ses connaissances approfondies de l'anatomie et des pathologies humaines, le champ technologique de la médecine aide à l'examen non invasif des artefacts fragiles ainsi qu'à leur conservation. Face à la dégradation des vestiges archéologiques dès leurs exhumations, l'imagerie médicale offre une possibilité de création d'une copie virtuelle et de récupération de tout ou partie de l'échantillon (« double numérique »). Par l'examen microscopique, physico-chimique et bio-moléculaire, la « paléomédecine » (paléopathologie et pathographie), en pleine évolution, présente également des possibilités d'analyses élémentaires simultanées focalisées sur la zone d'intérêt, ou d'un grandissement optimal pour études tracéologiques, parasitaires, palynologiques, cristallographiques, au service de l'établissement d'abord ponctuel puis global d'une pathocénose*.

La réciprocité s'appuie sur l'apport du patrimoine dans l'amélioration de la compréhension de l'Homme contemporain par l'intégration du regard et des méthodes archéologiques en médecine et médecine légale (du repérage de la fosse sépulcrale à l'analyse microbienne sur dépôts anciens). Ainsi, l'archéologue, présent au moment de la découverte d'un corps, pourrait aider à la gestion de la fouille fine du lieu d'inhumation, au dégagement optimal du squelette, à la compréhension *in situ* de la chronologie et des mécanismes du dépôt (mise en terre et lésions *post-mortem*), puis à la levée de corps *stricto sensu*. Outre sa présence sur le terrain, l'archéologue rend possible la mise en place des méthodes d'identification et de diagnostic (sexuel et pathologique) d'un individu, d'un groupe, d'une population, ainsi que de leur interaction, puis la vérification fonctionnelle des méthodes déjà existantes en contexte légal, en s'appuyant sur l'imprécision juridique.

En effet, le cadre légal ne statue pas explicitement sur l'intervention sur restes humains, quel que soit le contexte scientifique (archéologique, médico-légal ou muséal). Quatre principales lois régissent de fait l'intervention scientifique sur ce type de restes :

- l'article 225-17 du *Code Pénal* stipule que : « Toute atteinte à l'intégrité du cadavre, par quelque moyen que ce soit, est punie d'un an d'emprisonnement et de 15 000 euros d'amende. »³¹⁶,
- l'article 16 de la loi n°94-653 du 29 juillet 1994 relative au respect du corps humain : « [...] assure la primauté de la personne, interdit toute atteinte à la dignité de celle-ci et garantit le respect de l'être humain dès le commencement de sa vie. [...] Chacun a droit au respect de son corps. Le corps humain est inviolable. Le corps humain, ses éléments et ses produits ne peuvent faire l'objet d'un droit patrimonial. Il ne peut être porté atteinte à l'intégrité du corps humain qu'en cas de nécessité thérapeutique pour la personne. »³¹⁷.
- l'article 74 du *Code de Procédure Pénale* : « En cas de découverte d'un cadavre, qu'il s'agisse ou non d'une mort violente, mais si la cause est inconnue ou suspecte, l'OPJ qui en est avisé informe immédiatement le Procureur de la République, se transporte sans délai sur les lieux et procède aux premières constatations. Le Procureur de la République se rend sur place s'il le juge nécessaire et se fait assister de personnes capables d'apprécier la nature des circonstances du décès ... » (ces personnes mentionnées par le *Code de Procédure Pénale* sont classiquement des médecins légistes, mais le « degré de compétence » mentionné par ce texte de loi ouvre également la porte à d'autres sachants, à commencer par les ostéo-archéologues),
- l'article 81 du Code Civil : « Lorsqu'il y aura des signes ou indices de mort violente ou d'autres circonstances qui donnent lieu de la soupçonner, on ne pourra faire l'inhumation qu'après qu'un officier de police, assisté d'un docteur en médecine ou en chirurgie, aura dressé un PV de l'état du cadavre et des circonstances relatives ... »

Par ces articles de loi, lorsqu'un corps, un squelette ou un fragment humain parvient au médecin-légiste/anthropologue pour la détermination des causes de décès ou l'identification du cadavre, celui-ci n'a pas, de manière codifiée, l'autorisation de mettre en place des expérimentations à partir de ces corps remis par la justice.

³¹⁶ Article 225-17 du *Code Pénal* [En ligne]

<https://www.legifrance.gouv.fr/affichCodeArticle.do?cidTexte=LEGITEXT000006070719&idArticle=LEGIARTI000006417907&dateTexte=&categorieLien=cid>, consulté le 12.06.2017.

³¹⁷ Article 16 de la loi n°94-653 du 29 juillet 1994 [En ligne]

<https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000549619&categorieLien=id>, consulté le 12.06.2017.

De ce fait, de façon organisée, et faute d'avoir l'autorisation légale de prélever sur les cadavres qui lui sont fournis par le Justice pour autopsie et expertise, l'anthropologue médecin légiste se « fournit » sur d'autres éléments biologiques humains anthropologiques pour lui permettre de développer, de valider ou invalider, et donc d'améliorer ses techniques d'identification individuelle et de diagnostic rétrospectif (causes et circonstances de la mort, état pathologique sous-jacent, marqueurs d'activités ou de stress³¹⁸, soins médico-chirurgicaux préalables à la mort, lésions taphonomiques *post-mortem* permettant de déterminer le devenir du cadavre dès le dépôt funéraire, le tout pouvant servir l'enquête) : artefacts humains archéologiques ou historiques (momies, reliques, squelettes, etc.). En fonction du caractère nominatif ou anonyme de ceux-ci, le médecin légiste va apprécier les lésions traumatiques et taphonomiques^{319,320} pour les causes de mort, à commencer par les squelettes et les restes altérés. Cette démarche permet d'éliminer les faux diagnostics, le délai *post-mortem*/l'ancienneté des restes, avec des corps généralement anonymes par le biais de références archéologiques datées par les couches stratigraphiques et le mobilier associé. Pour des restes identifiés avec la pathographie (personnages dont on connaît la date de décès et des données biographiques significatives), il va pouvoir développer ses techniques de reconstitution faciale, de diagnose sexuelle, d'âge au décès, de stature, de saisonnalité (par la palynologie³²¹ en quelle saison et en quel lieu la personne est décédée ou a été embaumée), de causes de décès (notamment grâce aux analyses toxicologiques^{322,323}) ou les traces de gestes funéraires³²⁴. L'archéologie apporte ainsi une méthodologie mais également des supports

³¹⁸ CHAUVEAU A.L, AUGIAS A., FROMENT A., BEURET F., CHARLIER P. Radio-scannographic correlation of Harris lines in adults : Forensic and anthropological perspectives. *Eur J Forensic Sci.* 2015; 3(2).

³¹⁹ AUGIAS A. *et al.* Ante-, péri- ou post mortem ? Profil de fracturation en contexte humide : le cas du dépôt en puits (II^e-III^e siècles apr. J.-C.) de la place du Jeu-de-Paume, Beauvais (Oise). *BMSAP* 2017 : 1-5.

³²⁰ AUGIAS A., PROT E., ETCHEMENDIGARAY C., GOUREVITCH D., NOGEL JAEGER J., CHARLIER P. Post-mortem fetal expulsion : from archaeological discovery to forensic anthropology interpretation. *Feuillets de biologie* 2015 ; 6 :132-136.

³²¹ CHARLIER P. *et al.* The embalmed heart of Richard the Lionheart (1199 A.D.) : a biological and anthropological analysis. *Scientific Reports* 2013 ; 3(1296).

³²² CHARLIER P. *et al.* Fatal alchemy. Did gold kill a 16th century French courtesan and favourite of Henri II, ask. *BMJ* 2009 ; 339 : 1402-1403.

³²³ CHARLIER P. Qui a tué la Dame de Beauté ? Étude scientifique des restes d'Agnès Sorel (1422-1450). *Histoire des Sciences médicales* 2006 ; 40(3) : 255-263.

³²⁴ AUGIAS A., HUYNH-CHARLIER I., FROESCH P., MCMULLAN-WEITZEL B., CHARLIER P. Detection of an embalming strip on a french royal mummified head (Henry IV, 1610) : Virtual reconstruction of a technical gesture. *VI^e colloque international de pathographie* 2017 : 7-16.

d'études nécessaires à la compréhension de tous ces mécanismes d'altération du corps (intrinsèques et extrinsèques).

Dans le respect des restes humains (anciens comme contemporains), l'obtention de doubles virtuels, possible par l'imagerie médicale et les *process* informatiques, va permettre une (ré)inhumation rapide. Ainsi, suite à son identification et à l'étude de ses restes, Diane de Poitiers a pu être ré-inhumée en mai 2010 dans son emplacement initial, soit 215 ans après avoir été exhumée lors de la révolution française puis jetée dans une fosse commune... mais moins d'un an après son dégagement de la fosse commune par une équipe interdisciplinaire³²⁵.

Dans l'optique du *mortui vivos docent*, il s'agit *de facto* d'une boucle d'enseignement, d'un va-et-vient perpétuel, d'une dynamique cyclique entre le passé et le présent où le présent, par ces avancées technologiques, réécrit le passé, lequel, par ces découvertes archéologiques, enseigne aux vivants et enclenche une relecture, une nouvelle réflexion. Mieux connaître et comprendre le passé commun biologique et social ainsi que son évolution, c'est mieux appréhender et traiter ses formes présentes.

Pour des raisons scientifiques et éthiques, le cadre légal apparaît malgré tout inadapté et il convient de remédier à cette ambiguïté juridique, desservant tous les domaines relatifs à l'Homme, par la relecture des articles de loi dans un consensus interdisciplinaire. Par son implication dans l'examen des restes humains, l'archéologie deviendrait un des maillons décisionnaires légaux (par exemple, lors de la délivrance d'un permis d'inhumer délivré par un officier de l'état civil). Au-delà de la simple intervention ponctuelle, l'« archéo-anthropologie médico-légale » pourrait alors lier le tout sans frontière chronologique ou spatiale, permettant un traitement victimologique complet sans réelle prescription criminelle dans les faits avec l'identification, la reconstitution des faits intrinsèques (embaumement, lésions, etc.) comme extrinsèques (restitution des gestes funéraires, mode de dépôt, etc.) et, par exemple, traiter les « *cold cases* » judiciaires et médicaux^{326, 327}.

³²⁵ CHARLIER P. *et al.*, Fatal alchemy. Did gold kill a 16th century French courtesan and favourite of Henri II? *BMJ* 2009 ; 339 : 1402-1403.

³²⁶ D'ARGENIO V, TORINO M, PRECONE V *et al.* The Cause of Death of a Child in the 18th Century Solved by Bone Microbiome Typing Using Laser Microdissection and Next Generation Sequencing. *In* : CHO W.C. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017 ; 18(1) : 109.

Un recensement commun, national voire international, de ces pièces muséales, archéologiques, patrimoniales et hospitalières archivées ainsi que la mise à disposition des résultats d'études/ le croisement de production sur une même plateforme ouverte faciliteraient l'accès scientifique de ces supports à de nouvelles études. La création d'un plateau de partage interdisciplinaire (archéologie, physique, chimie, biologie, médecine, etc.), sur lequel les organismes scientifiques mettraient à disposition leurs savoirs et leurs matériels, permettrait de systématiser ces échanges, servir la recherche, mettre à contribution leur savoir-faire et éviter les prélèvements et analyses multiples pour la réalisation de mêmes études.

L'archéologie, associée à la technologie médicale, aide à contrer l'ennemi de toute enquête - le temps.

³²⁷ LOYNES R.D., CHARLIER P., FROESCH P., HOULTON T.M.R., LALLO R., DI VELLA G., BIANUCCI R. Virtopsy shows a high status funerary treatment in an early 18th Dynasty non-royal individual. *Forensic Sci Med Pathol.* 2017.

Glossaire

ALPHA - diversité totale (gamma) des espèces dans une communauté.

ALTERNARIA ALTERNATA - est un champignon nocif issu du sol qui, à l'instar de toute espèce de champignon, se développe dans un milieu humide et chaud. Il se multiplie sur les plantes, les dépôts détritiques organiques et les aliments et provoque chez l'Homme des affections épidermiques, des allergies respiratoires, de l'asthme, des leucopénies (dues aux mycotoxines), des mycoses cutanées et des rhinites et des sinusites^{328,329}.

ANAEROBIE - Bactérie ne pouvant se multiplier en présence d'oxygène.

ASCARIS - Helminthes provoquant une ascaridiose. Cette infection, non contagieuse, est liée à de mauvaises conditions d'hygiène et débute par l'ingestion d'œufs présents dans un sol contaminé par des matières fécales (humaines ou porcines), par la consommation d'eau ou d'aliments contaminés, voire dans l'air dans des climats secs et venteux. Les œufs vont ensuite éclore dans l'intestin grêle. Les larves vont pénétrer la paroi intestinale et se diriger vers les lits vasculaires pulmonaires et les alvéoles puis sont avalés puis se développent et se reproduisent dans l'intestin pouvant aller jusqu'à l'obstruction intestinale et biliaire. Ces vers peuvent ensuite se déplacer dans le système hépatobiliaire, les canaux pancréatiques voire les reins ou le cerveau. Bien que généralement asymptomatique, cette infection peut toutefois provoquer d'importants troubles gastro-intestinaux et respiratoires tels que des nausées, diarrhées, une malnutrition, une anémie ferriprive, une pancréatite et une appendicite, des déficiences de la croissance et de la cognition chez l'enfant, pouvant provoquer la gangrène et la mort par obstruction^{330,331}.

DIATOMÉES - micro-algues présentes dans les divers environnements aquatiques et humides. Elles représentent un des éléments principaux du phytoplancton consommé par les poissons herbivores, lesquels sont mangés par des poissons carnivores. L'impact du système

³²⁸ CODY T.D., McCAFFREY T.V., ROBERTS G., KERN E.B., « Effects of *Aspergillus fumigatus* and *Alternaria alternata* on Human Ciliated Epithelium in Vitro ». *The Laryngoscope* 1997 ; 107 : 11.

³²⁹ BELGARBI-DUTRON L. *Morphologie de la levure Alternaria Alternata*. ENS de Lyon. 2012 [En ligne] <http://biologie.ens-lyon.fr/ressources/tp-direct/etude-de-la-morphologie-de-la-levure-alternaria-alternata> consulté le 03.12.2016.

³³⁰ PLORDE J. J. Intestinal nematodes. In : RYAN K.J., RAY C.G. (eds.), *Sherris Medical Microbiology, an Introduction to Infectious Disease* 2004 ; 4 : 763-777.

³³¹ SHEOREY H., BIGGS B. A. & TRAYNOR P. Nematodes. In : MURRAY P.R., BARON E.J., JORGENSEN J.H., LANDRY M.L., PFALLER M.A. (eds.), *Manual of Clinical Microbiology* 2007 ; 9 : 2144-2155.

défensif de plusieurs espèces de diatomées sur la santé humaine, et notamment au niveau digestif, fait actuellement l'objet de recherches scientifiques³³². En effet, l'ingestion de certains produits de la mer, à l'instar des moules ou des anchois, peut provoquer un mytilisme amnésiant type ASP et donc des troubles digestifs et neurologiques importants.

DYSBIOSE – « Altération du microbiote par rapport à un état sain. La dysbiose réfère à un état de déséquilibre des populations microbiennes par rapport un état d'équilibre (« eubiose ») entre symbiotes et pathobiontes. La dysbiose est principalement rapportée dans le tractus digestif ou sur la peau, mais peut se produire sur toutes les surfaces exposées ou les muqueuses. Une dysbiose peut être observée à plusieurs niveaux d'analyse, de la diversité jusqu'aux fonctions. »³³³.

HÉMÉRALOPIES – Déficience de la vision au crépuscule.

INDEL – Apparition ou perte (insertion ou délétion) de séquence dans un génome humain donné par rapport à une référence³³⁴.

MARQUEURS D'ACTIVITÉS - les « variations, pathologiques ou non, supposées représenter l'expression de la plasticité de l'os sous la pression de forces extra-corporelles et internes subies lors de la vie »^{335,336}.

MÉTHODE MÉTRIQUE (Pascal Murail et Jaroslav Bruzek) - méthode de diagnose sexuelle d'un individu ostéologiquement mature basée sur dix mesures ; longueur du pubis, largeur pubo-acétabulaire, hauteur maximale de l'os coxal, hauteur de la grande incisure

³³² D'ELBEE J. *Mémento de planctonologie marine*. Versailles, Quae, 2016.

³³³ LEPAGE P. Le microbiote intestinal humain : interactions avec l'hôte et dysfonctions. *Feuillets de Biologie* 2015 : 323.

³³⁴ MILLS R.E., LUTTIG C.T., LARKINS C.E., BEAUCHAMPS A., TSUI C., PITTARD W.S., DEVINE S.E. An initial map of insertion and deletion (INDEL) variation in the human genome. *Genome research* 2006 ; 16 : 1182-1190.

³³⁵ KENNEDY K.A.R. Assessment of occupational stress. In : SIEGEL J.A., SAUKKO P.J., KNUPFER G.C. (dir.), *Encyclopedia of forensic sciences*. New-York, Academic Press, 2000.

³³⁶ VILLOTTE S. Les marqueurs ostéoarticulaires d'activité. In : CHARLIER P. (dir), *Ostéo-archéologie et techniques médico-légales : tendances et perspectives. Pour un Manuel pratique de paléopathologie humaine*. Paris, De Boccard, 2008.

ischiatique, longueur post-acétabulaire de l'ischium, largeur de l'ilium, longueur spino-sciatique, longueur spino-auriculaire, largeur cotylo-sciatique et diamètre vertical de l'acétabulum^{337,338}.

MÉTHODE MORPHOLOGIQUE (Jaroslav Bruzek) - méthode de diagnose sexuelle d'un individu ostéologiquement mature basée sur l'observation de cinq critères sur l'os coxal ; la région préauriculaire, la grande échancrure sciatique, l'arc composé, la branche ischio-pubienne et la longueur du pubis et de l'ischion³³⁹.

OTU - Operational Taxonomic Units. Représente le nombre de phylotypes/ espèces moléculaires³⁴⁰.

OZONE – gaz inodore efficace sur les souches résistantes aux antibiotiques pour éradiquer la quasi-totalité des bactéries, virus, *fungi* et *protozoa* dans l'organisme humain par ozonolysis et oxidation intracellulaire des protéines menant à la perte de la fonction originelle. Il réactive également le système immunitaire et est un anti-inflammatoire³⁴¹.

PALÉOPATHOLOGIE - « science des maladies dont on peut démontrer l'existence sur les restes humains et animaux des temps anciens »³⁴².

PATHOGRAPHIE - « l'étude médicale des restes humains anciens issus de fouilles archéologiques ou de collections muséographiques »³⁴³.

³³⁷ BRUZEK J., MURAIL P. Methodology and Reliability of Sex Determination From the Skeleton. Schmitt A, Cunha E, MSci JPM, éditeurs. *Forensic Anthropology and Medicine* 2006 : 225-42.

³³⁸ Méthode métrique de diagnose sexuelle [En ligne] <http://projets.pacea.u-bordeaux.fr/logiciel/?id=2>, consulté le 08.05.2017.

³³⁹ BRUZEK J. Proposition d'une nouvelle méthode morphologique dans la détermination sexuelle de l'os coxal. Application à la Chaussée-Tirancourt. *GDR 742. Méthodes d'étude des sépultures*. Compte-rendu de la Table Ronde de Saintes 1991 : 13-21.

³⁴⁰ LEPAGE P. Le microbiote intestinal humain : interactions avec l'hôte et dysfonctions. *Feuillets de Biologie* 2015 ; 323.

³⁴¹ KAUL R., ANGRISH P., JAIN P., SINGH SASAN N. Ozone Therapy- A Paradigm Shift in Dentistry, *International Journal of Health Sciences & Research* 2015 ; 5(5) : 410-415.

³⁴² THILLAUD P.L. *Paléopathologie humaine*. Sceaux, Kronos Editions, 1996.

³⁴³ CHARLIER P., ALLIOT D. *Quand la science explore l'histoire*. Paris, Tallandier, 2014.

PATHOCÉNOSE - ensemble des « états pathologiques au sein d'une population déterminée, dans le temps et dans l'espace »³⁴⁴.

PCoA - Analyses en Coordination Principale.

PESSOS - restes céramiques et spicules d'éponges.

SCHMITT (méthode) – détermination de l'âge d'un individu ostéologiquement mature basée sur quatre observations de la surface sacro-pelvienne iliaque ; organisation transverse (présence ou absence de stries et ondulations), modification de la surface auriculaire (degré de granulation), modification apicale (bord fin ou émoussé) et modification de la tubérosité iliaque (présence ou absence de remaniement)³⁴⁵.

SÉPULTURE EN ESPACE COLMATÉ - dépôt d'un individu en pleine terre, provoquant le remplacement instantané des tissus mous par du sédiment.

SÉPULTURE EN ESPACE VIDE - dépôt d'un individu dans un contenant (cercueil, coffre, linceul). Les tissus mous ne sont pas remplacés et il se produit un affaissement des parties en élévation telles que les côtes et le bassin. L'observation d'effets de paroi, de contention (épaules, pieds...), de changement de couleur dans le sédiment, de la présence de clous renseignent sur le type de contenant.

SÉPULTURE INDIVIDUELLE - dépôt d'un seul individu.

SÉPULTURE PLURIELLE - la distinction se fait par la présence ou l'absence de sédiment entre chaque dépôt squelettisé :

Multiple : dépôt simultané de plusieurs individus dans une sépulture

Collectif : dépôt successif de plusieurs individus dans une sépulture

SÉPULTURE PRIMAIRE - individu dont la décomposition s'est faite dans une sépulture définitive. Dans le cadre d'incinération, la fosse est à la fois le lieu du bûcher et de sépulture. On observera la présence de résidus de combustion et parfois de mobilier endommagé par le feu. Le volume et les connexions anatomiques persistent.

³⁴⁴ GRMEK M. Préliminaires d'une étude historique des maladies. *Annales ESC* 1969 ; 24 : 1437-1483.

³⁴⁵ SCHMITT A. Une nouvelle méthode pour estimer l'âge au décès des adultes à partir de la surface sacro-pelvienne iliaque. *BMSAP* 2015 ; 17 (1-2) : 89-101.

SÉPULTURE SECONDAIRE - individu dont la décomposition s'est engagée dans un autre lieu. Dans le cadre d'incinération, on distingue le versement de la totalité du bûcher (os + combustible) et le dépôt uniquement des os. Présence de mobilier intact. Le volume et les connexions anatomiques sont lâches ou inexistantes.

SHAMAN - SHiny Application for Metagenomic ANalysis. Logiciel de lecture OTU, développé par l'Institut Pasteur, est construit sur des outils standard et utilise des bases de données à jour *Silva*, RDB³⁴⁶ et *Greengenes* ainsi que des références supplémentaires pour les expériences 18S et shotgun. La base de données RDB est la plus complète mais va prendre en compte les bactéries tant environnementales que fécales. La base de données *Silva* est moins complète que RDB mais fournit tout de même une annotation élevée contrairement à *Greengenes*.

SHANNON (indice) - mesure statistique de la diversité dans un écosystème, les abondances relatives prenant en compte les espèces rares. Ainsi, plus la mesure est élevée, plus la diversité est grande. A la lecture des résultats, la diversité augmente avec le nombre. Plus précisément, un indice bas exprime « la dominance d'une espèce bactérienne par rapport aux autres »³⁴⁷ tandis que l'inverse exprime une « codominance entre les espèces »^{348,349}.

SIMPSON (indice) - indice de probabilité de dominance. Il exprime la récurrence mesurée des espèces fréquentes et la probabilité que deux individus appartiennent à la même espèce. Ainsi, plus l'indice est faible plus la diversité des espèces est élevée³⁵⁰.

RÉDUCTION - Amas osseux résultant de manipulations réalisées sur un ancien dépôt primaire à l'occasion de la mise en place d'un nouveau dépôt dans la sépulture. Cette pratique sous-entend un repère spatial en surface.

³⁴⁶ COLE J.R., WANG Q., FISH J.A., *et al.* Projet de base de données ribosomique: données et outils pour l'analyse de l'ARNr à haut débit. *Nucleic Acids Research*. 2014 ; 42 : 633-642.

³⁴⁷ GROSDÉMANGE A. *Impact du microbiote intestinal sur le système immunitaire de l'enfant*. Thèse. Université de Lorraine. Faculté de pharmacie. 2014

³⁴⁸ WEAVER W., SHANNON C.E., *The Mathematical Theory of Communication*, Univ. of Illinois Press, 1963.

³⁴⁹ GROSDÉMANGE A. *Impact du microbiote intestinal sur le système immunitaire de l'enfant*. Thèse. Université de Lorraine, Faculté de pharmacie, 2014.

³⁵⁰ SIMPSON E. H. Measurement of Diversity. *Nature* 1949 ; 163 : 688-688.

TAPHONOMIE - « a process or chain of events that begins just before the death of an organism, and proceeds through decomposition, desarticulation, burial, fossilisation, exposure, and collection. At each stage of this process, various taphonomic agencies intervene to obscure, bias, and add to the information that is available from the resulting collection »³⁵¹

TRICHURIS SP. - Helminthes provoquant une trichocéphalose. L'infection se fait par un environnement souillé de matière fécal, à l'instar des œufs d'*Ascaris*. Il s'agit d'un ver plat parasite évoluant dans le foie. Une telle infection se caractérise par des diarrhées, migraines, insomnies, vomissements, douleurs abdominales, ténésmes pouvant mener à la déshydratation, l'anémie et parfois des difficultés respiratoires et cardiaques, des œdèmes, des convulsions et des prolapsus³⁵².

³⁵¹ KOCH C.P. *Taphonomy : a bibliographic guide to the literature*. Orono, The Center for the Study of First Americ, 1989.

³⁵² NEAFIE R.C., CONNOR D.H. Trichuriasis. In : BINFORD C.H., CONNOR D. H. *Pathology of tropical and extraordinary diseases* 1976 ; 2 : 415-420.

Liste des figures

Fig. 1 - Coupe général de la circulation des eaux dans les latrines romaine de l'habitation *IIEj*, Délos (©Y. Lemoine, P. Charlier).

Fig. 2 - Diagramme stratigraphique des niveaux latrinaires de la Maison-forte de Chambly (© Isabelle Caillot)

Fig. 3 - Cliché photographique des latrines de la maison-forte, Chambly (© Isabelle Caillot)

Fig. 4 - Relevé stratigraphique des latrines de la maison-forte, Chambly (© Mathieu Caby, Christophe Sévin).

Fig. 5 - Adam Pérelle, « Le château de Marly du côté des Jardins », 1683-1684, gravure. Collection particulière.

Fig. 6, 7 et 8 - Clichés photographiques des latrines de l'appartement du roi du Pavillon royal du Château de Marly lors des prélèvements (© Philippe Charlier).

Fig. 9 - Cliché photographique des latrines de la Grande Guerre (La81), Isles-sur-Suipe « Sohettes et Val des Bois », Warmeriville (© Yoann Rabasté).

Fig. 10 - Coupe stratigraphique des latrines de la Grande Guerre (La81), Isles-sur-Suipe « Sohettes et Val des Bois », Warmeriville (© Yoann Rabasté).

Fig. 11 - Clichés photographiques des latrines du site LBC, Forêt d'Argonne (© Jérôme Brenot).

Fig. 12 - Coupe stratigraphique des latrines de la Grande Guerre, « Le bas de la Noue St Rémi », Cernay-lès-Reims CLR1 secteur 9 FT2672 US130 (© Yoann Rabasté).

Fig. 13 - Clichés photographiques des latrines du camp de prisonniers allemands et de la localisation des prélèvements (Stenay) de 1945-1946 (© Frédéric Adam).

Fig. 14- Répartition et description des sites (© Anaïs Augias)

Fig. 15 - Schéma des étapes de séquençage et d'analyses bio-informatique via SHAMAN.

Fig. 17 - Oeuf d'*Ascaris lumbricoides* x1000 dans l'échantillon latrinaire C36 (© Anaïs Augias).

Fig. 18 - Oeufs de *Trichuris sp.* plein et vide vus à la microscopie optique dans les échantillons détritiques de Chambly **a.** C53 x1000, **b.** C55 x400, **c.** C47 x400 (© Anaïs Augias).

Fig. 19 - Oeuf de *Trichuris sp.* vide vu au MEB dans l'échantillon C57 (© Anaïs Augias).

Fig. 20 - *Rhabditis* - échantillon C49 x1000 (© Anaïs Augias).

Fig. 21 - *Rhabditis* - échantillon C53 x400 (© Anaïs Augias).

Fig. 22 - Petite douve *dicrocoelium* - échantillon C51 x1000 (© Anaïs Augias).

Fig. 23 - Diatomées (de gauche à droite) - échantillon C57 x400 et échantillon C49 x1000 (© Anaïs Augias).

Fig. 24 - Champignons de type *Alternaria alternata* – échantillons C49 et C51 x1000 (©Anaïs Augias).

Fig. 25 - *Trichuris sp.* – échantillon M27 x 1000 et M26 x1000 du 3^e pavillon du Levant (©Anaïs Augias).

Fig. 26 - Diatomées, échantillon M27 x1000 du 3^eme pavillon du Levant (©Anaïs Augias).

Fig. 27 - Champignons de type *Alternaria alternata* – échantillon M20 x1000 (©Anaïs Augias).

Fig. 28 et 29 - *Parascaris equorum* - échantillon M27 x400 du 3^{ème} pavillon du Levant (©Philippe Charlier).

Fig. 30 - Œuf d'Ankylostomose – échantillon STE 4 x 1000 (©Anaïs Augias).

Fig. 31 - Analyse comparative (en %) de présence de métaux lourds entre la croûte terrestre (CT), le corps humain (CH) et les échantillons latrinaires anciens. Le taux de plomb, étain et cuivre ayant été ôté des échantillons du site de Marly en raison de matériel métallique associé (©Anaïs Augias).

Fig. 32 - Analyse comparative (en %) de présence de métaux lourds entre la croûte terrestre (CT), le corps humain (CH) et les échantillons latrinaires récents (©Anaïs Augias).

Fig. 33 - Abondance des phylums dans l'ensemble des échantillons (©Anaïs Augias).

Fig. 34 - Proportion phylatique majoritaire dans l'ensemble des dépôts latrinaires (©Anaïs Augias).

Fig. 35 - Salvadoran rural agriculturalist (RES) human fecal and environmental microbiota and resistomes (© Pehrsson E.C., *et al.* 2016).

Fig. 36 - Qualité des échantillons, via l'annotation RDP *database*. (© Sean Kennedy).

Fig. 37 - PCoA de variabilité du rôle des trois différents kits d'extraction ADN (© Sean Kennedy).

Fig. 38 - Variation de l'indice de diversité des kits d'extraction ADN (© Sean Kennedy).

Fig. 39 - PCoA des effets des différents temps d'extraction ADN (© Sean Kennedy).

Fig. 40 - Graphique de raréfaction (© Sean Kennedy).

Fig. 41 - Variation de diversité des espèces (© Sean Kennedy).

Fig. 42 - PCoA des échantillons latrinaires (© Sean Kennedy).

Fig. 43 - Répartition des longueurs de lectures avancées (© Romain Laurent).

Fig. 44 - Répartition des longueurs avancées après l'analyse des séquences de l'ARN (© Romain Laurent).

Fig.45 - Nombre total de lectures par échantillon après l'analyse des séquences de l'ARN (© Romain Laurent).

Fig. 46 - MDS basée sur les abondances (Bray-Curtis distance) obtenues après par la sélection OTU de novo (© Romain Laurent).

Fig. 47 - MDS du regroupement Greengenes. La première rangée correspond à l'ensemble complet des données, la deuxième rangée correspond uniquement aux OTU représentant au moins 0,05% des lectures. Le type de distance utilisée est indiqué sous chaque graphique. Par souci de comparaison, les graphiques ont été réunis pour avoir des orientations cohérentes (© Romain Laurent).

Fig. 48 - MDS du regroupement Silva. La première rangée correspond à l'ensemble complet des données, la deuxième rangée correspond uniquement aux OTU représentant au moins 0,05% des lectures. Le type de distance utilisée est indiqué sous chaque graphique. Par souci de comparaison, les graphiques ont été réunis pour avoir des orientations cohérentes (© Romain Laurent).

Fig. 49 - MDS de données contenant uniquement les phylums *Firmicutes* et *Bacteroidetes*. Par souci de comparaison, les graphiques ont été réunis pour avoir des orientations cohérentes (© Romain Laurent).

Fig. 50 - Proportion de lectures du microbiome par échantillon, obtenu à partir du regroupement Silva. Des résultats similaires sont obtenus à partir le regroupement Greengenes (© Romain Laurent).

Fig. 51 - Nombre d'OTU privé pour chaque site en considérant uniquement les phylums *Bacteroidetes* et *Firmicutes*. Les étoiles indiquent un excès significatif d'OTU privées ($p < 10^{-3}$) (© Romain Laurent).

Fig. 52 - Composition du microbiome intestinal du site actuel de Beauce (©Anaïs Augias).

Fig. 53 - Mean Phylum abundances by body habitat – gut control (© Koren *et al.* 2010).

Fig. 54 - Abondance des phylums dans tous les échantillons, sans les Protéobactéries et les Actinobactéries (©Anaïs Augias).

Fig. 55 – Abondances et répartition chronologique des taxons latrinaires **a.** des classes, **b.** des ordres, **c.** des familles, **d.** des gènes (©Anaïs Augias).

Fig. 56 - Répartition spatiale, chronologique et phylogénique des échantillons latrinaires. Les protéobactéries et actinobactéries ainsi que le site « Le Bonnet Coton » ont été ôtées (©Anaïs Augias).

Fig. 57 - Liste des bactéries pathogènes humaines (d'après ©123bio.net d'après *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*) suivie de la liste des antibiorésistants jugés prioritaires par l'OMS ou non (espèces potentiellement pathogènes) et leur présence dans le corpus

ancien et récent étudié et lu à partir du logiciel SHAMAN et des bases de données Silva et Greengenes (©Anaïs Augias).

Fig. 58 - Bilan corrigé des analyses élémentaires (sans la contamination au plomb, cuivre, étain, zinc pour les échantillons du Château de Marly due au mobilier associé), phylums (sans les Protéobactéries et les Actinobactéries caractéristiques du sol et de l'eau) et de microscopie optique (© Anaïs Augias).

Liste des annexes

Annexe 1 - Algorithme de sélection des échantillons (© Anaïs Augias).

Annexe 2 - Échantillon latrinaire de l'habitation II E J de Délos (© Anaïs Augias).

Annexe 3 - Échantillons latrinaires de la maison-forte de Chambly (© Anaïs Augias).

Annexe 4 - M20 : fond d'un aqueduc d'eaux pluviales et M21 à M25 : échantillons latrinaires du Pavillon royal du Château de Marly (©Anaïs Augias).

Annexe 5 - Coupe transversale de la fosse latrinaire du 3ème Pavillon du Levant du Château de Marly (© Annick Heitzmann).

Annexe 6 - Échantillons latrinaires du Pavillon du 3ème Levant du Château de Marly (©Anaïs Augias).

Annexe 7 – Plan des latrines de la Grande Guerre, Isles-sur-Suippe (ISS) « Sohettes et Val des Bois », Warmeriville (© Yoann Rabasté).

Annexe 8 – Latrines de la Grande Guerre (La82), Isles-sur-Suippe « Sohettes et Val des Bois », Warmeriville (© Yoann Rabasté).

Annexe 9 – Coupes stratigraphiques des latrines de la Grande Guerre (La82/ISS1 et La81/ISS2), Isles-sur-Suippe (ISS) « Sohettes et Val des Bois », Warmeriville (© Yoann Rabasté).

Annexe 10 – Échantillons latrinaires de la Grande Guerre, Isles-sur-Suippe (ISS) « Sohettes et Val des Bois », Warmeriville (© Anaïs Augias).

Annexe 11 - Plan de la tranchée et des latrines du site Le Bonnet de Coton, Sevron - Melzicourt (© Jérôme Brenot).

Annexe 12 - Échantillon latrinaire de tranchée française de 2e ligne, du site Le Bonnet de Coton, Sevron -Melzicourt (© Jérôme Brenot).

Annexe 13 – Plan général du site de la Grande Guerre de « Le bas de la Noue St Rémi », Cernay-lès-Reims (© Yoann Rabasté).

Annexe 14 – Détail du plan général du site de la Grande Guerre de « Le bas de la Noue St Rémi », Cernay-lès-Reims (© Yoann Rabasté).

Annexe 15 – Coupe et relevé stratigraphique des latrines de la Grande Guerre, « Le bas de la Noue St Rémi », Cernay-lès-Reims CLR1 secteur 9 FT2672 US130 (© Yoann Rabasté).

Annexe 16 – Coupe et relevé stratigraphique des latrines de la Grande Guerre, « Le bas de la Noue St Rémi », Cernay-lès-Reims CLR2 secteur 9 FT2534 (© Yoann Rabasté).

Annexe 17 – Relevé stratigraphique des latrines de la Grande Guerre, « Le bas de la Noue St Rémi », Cernay-lès-Reims CLR3 secteur 9 FT 2671 (© Yoann Rabasté).

Annexe 18 – Coupe et relevé stratigraphiques des latrines de la Grande Guerre, « Le bas de la Noue St Rémi », Cernay-lès-Reims CLR4 et CLR8 secteur 5 FT1053 US124 (© Yoann Rabasté).

Annexe 19 – Coupe et relevé stratigraphiques des latrines de la Grande Guerre, « Le bas de la Noue St Rémi », Cernay-lès-Reims CLR5 secteur 9 FT2670 (© Yoann Rabasté).

Annexe 20 – Coupe et relevé stratigraphiques des latrines de la Grande Guerre, « Le bas de la Noue St Rémi », Cernay-lès-Reims CLR6 secteur 9 FT2549 (© Yoann Rabasté).

Annexe 21 – Coupe et relevé stratigraphiques des latrines de la Grande Guerre, « Le bas de la Noue St Rémi », Cernay-lès-Reims CLR7 secteur 5 FT1056 US130 (© Yoann Rabasté).

Annexe 22 – Coupe et relevé stratigraphiques des latrines de la Grande Guerre, « Le bas de la Noue St Rémi », Cernay-lès-Reims CLR9 secteur 5 FT1059 US126 (© Yoann Rabasté).

Annexe 23 – Échantillons des latrines de la Grande Guerre, « Le bas de la Noue St Rémi », Cernay-lès-Reims (© Anaïs Augias).

Annexe 24 – Échantillons latrinaires du camp de prisonniers allemands (Stenay) de 1945-1946 (© Anaïs Augias).

Annexe 25 - Protocole d'analyses élémentaires de la totalité des échantillons (© Joël Poupon, Anaïs Augias).

Annexe 26 - Analyses élémentaires des dépôts latrinaires anciens (© Joël Poupon, Anaïs Augias).

Annexe 27 - Analyses élémentaires des latrinaires des sites de Délos et de la Maison-forte de Chambly (© Anaïs Augias).

Annexe 28 - Analyses élémentaires des latrines du château de Marly (© Anaïs Augias).

Annexe 29 - Analyses élémentaires des dépôts latrinaires récents (© Joël Poupon, Anaïs Augias).

Annexe 30 - Analyses élémentaires des latrines de la Grande Guerre (© Anaïs Augias).

Annexe 31 - Analyses élémentaires des latrines de la deuxième guerre et actuelles (© Anaïs Augias).

Annexe 32 – Résultat des extractions ADN des échantillons anciens (© Céline Bon, Anaïs Augias).

Annexe 33 – Résultat des extractions ADN des échantillons modernes (© Laure Ségurel, Anaïs Augias).

Annexe 34 – Résultat des blancs des échantillons anciens et modernes (© Céline Bon, Laure Ségurel, Anaïs Augias).

Annexe 35 - Échantillons anciens et modernes concernés par la PCR (© Céline Bon, Laure Ségurel, Anaïs Augias).

Annexe 36 - Protocole de PCR des échantillons anciens (© Céline Bon, Anaïs Augias).

Annexe 37 - Protocole de PCR des échantillons modernes (© Céline Bon, Anaïs Augias).

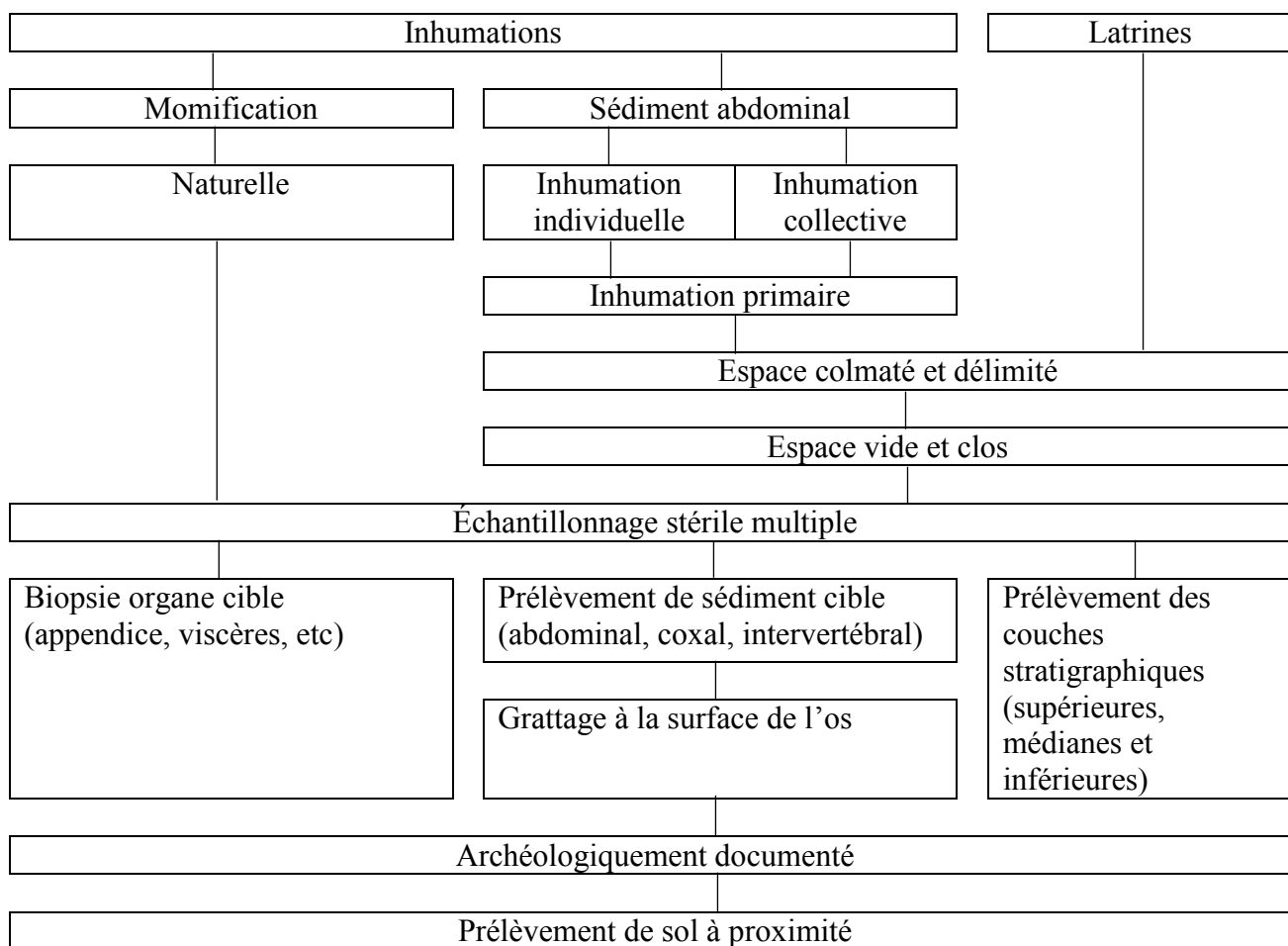
Annexe 38 - Résultat de la PCR des échantillons anciens (© Céline Bon, Anaïs Augias).

Annexe 39 - Résultat de la PCR des échantillons modernes (© Céline Bon, Anaïs Augias).

7

Annexes

4



Annexe 1 - Algorithme de sélection des échantillons (© Anaïs Augias).



Annexe 2 - Échantillon latrinaire de l'habitation II E J de Délos (© Anaïs Augias).



C34



C35



C36



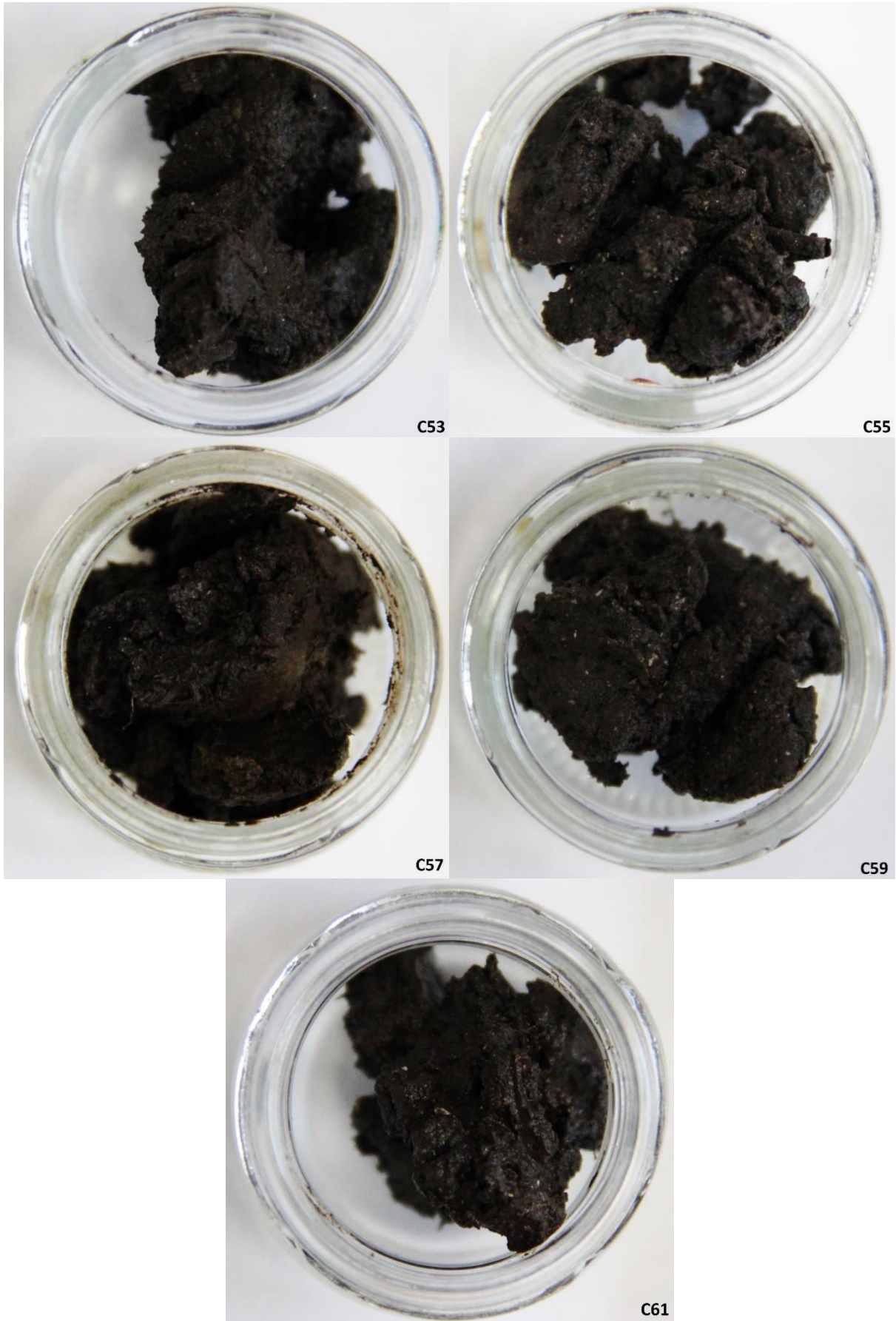
C47



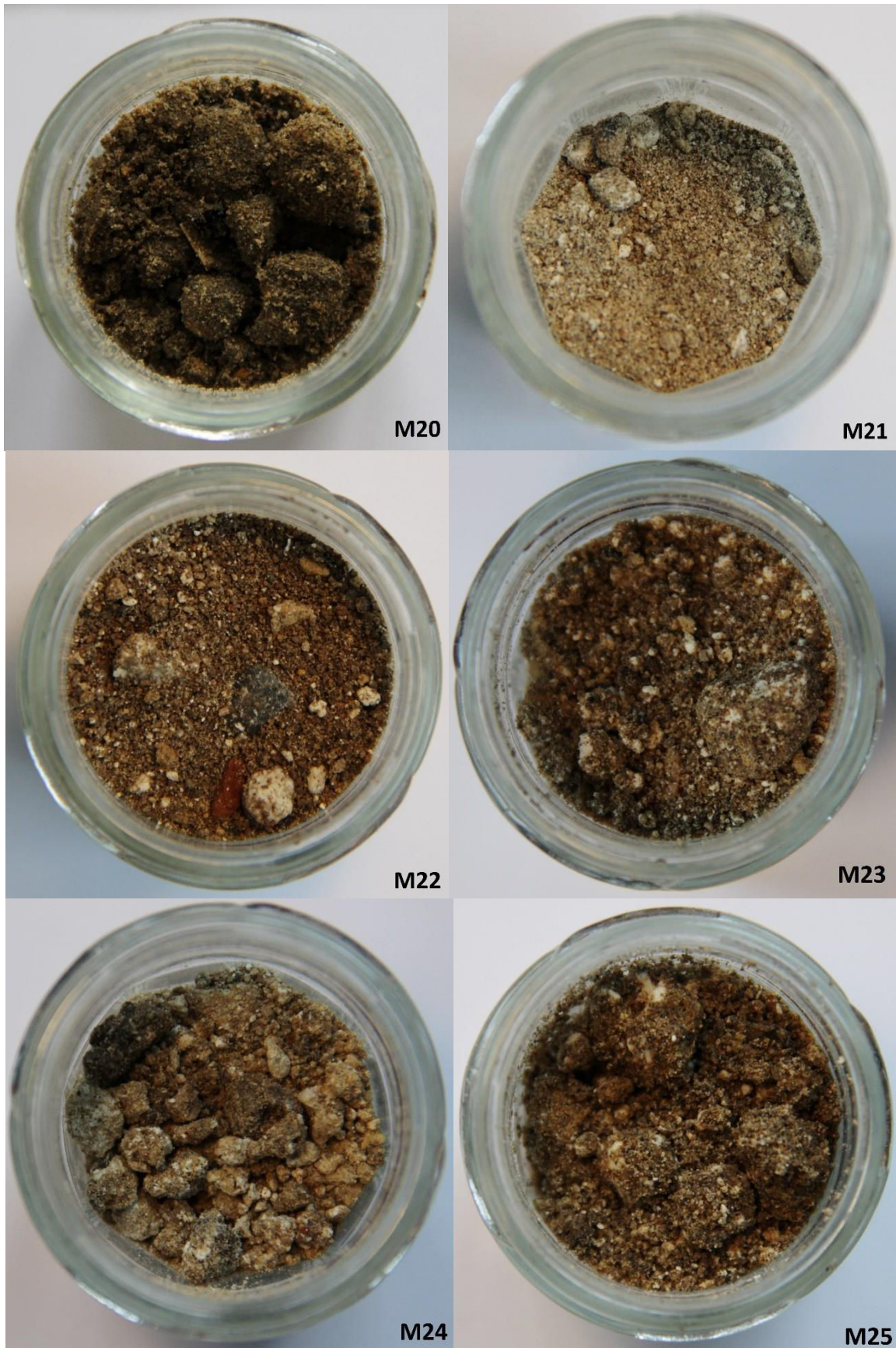
C49



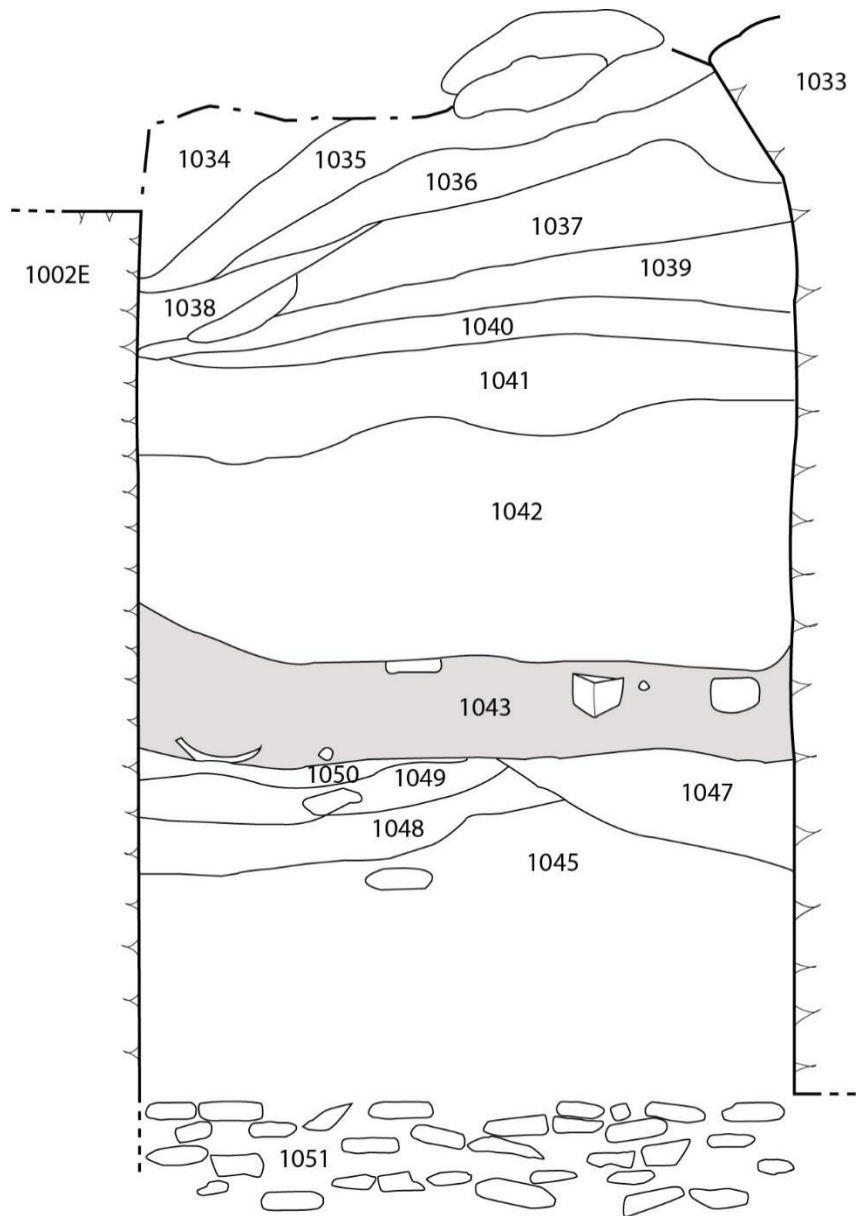
C51



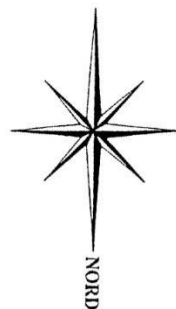
Annexe 3 - Échantillons latrinaires de la maison-forte de Chambly (© Anaïs Augias).



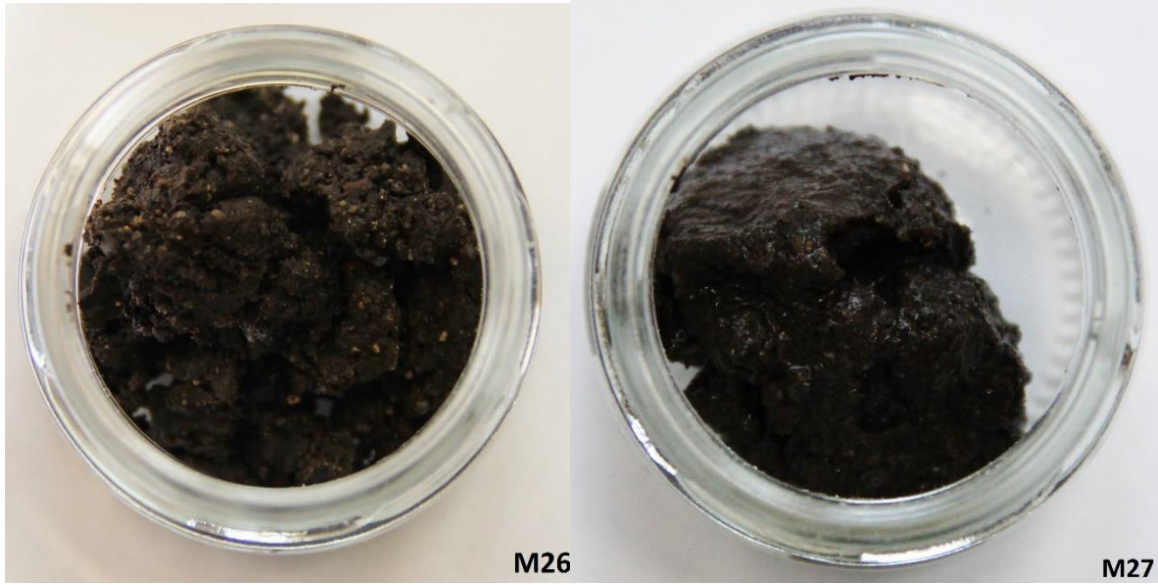
Annexe 4 - M20 : fond d'un aqueduc d'eaux pluviales et M21 à M25 : échantillons latrinaires du Pavillon royal du Château de Marly (©Anaïs Augias).



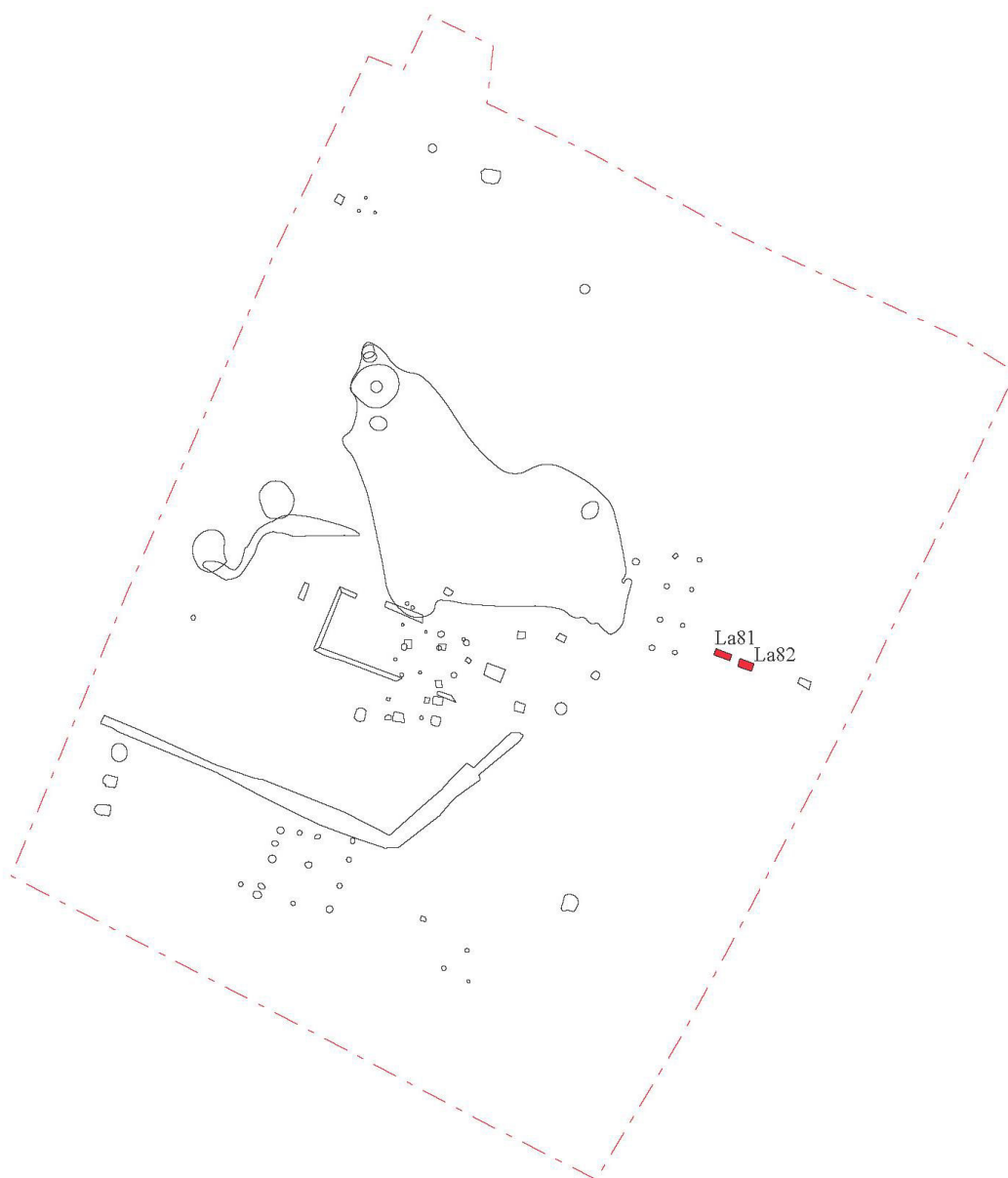
 Dépôt latrinaire






Annexe 5 - Coupe transversale de la fosse latrinaire du 3ème Pavillon du Levant du Château de Marly (©Annick Heitzmann).



Annexe 6 - Échantillons latrinaires du Pavillon du 3ème Levant du Château de Marly (©Anaïs Augias).



Légende

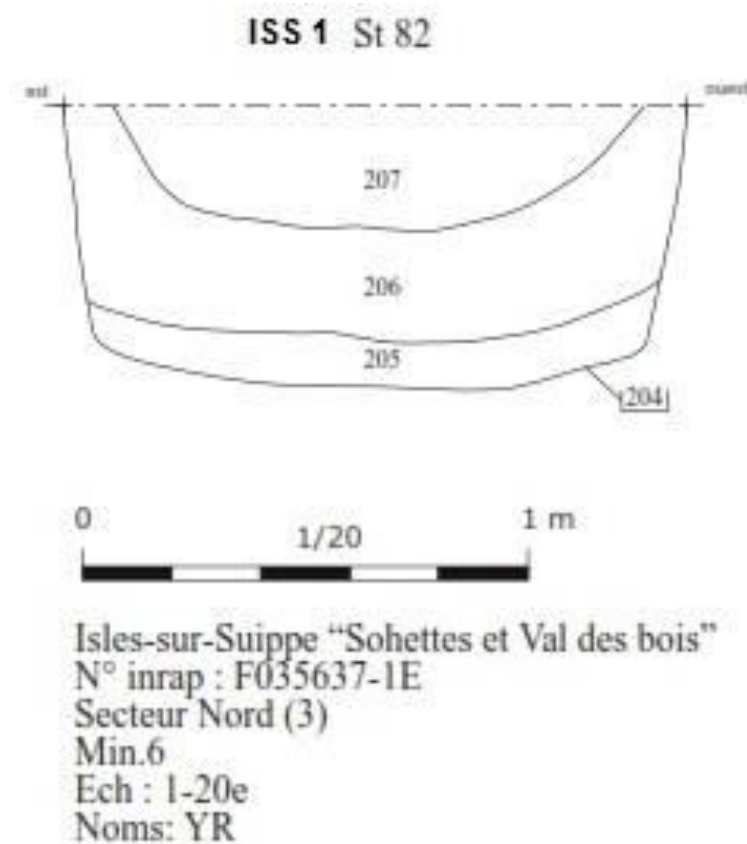
-  Emprise
-  Latrine
-  Vestige gallo-romain



Annexe 7 – Plan des latrines de la Grande Guerre, Isles-sur-Suippe (ISS) « Sohettes et Val des Bois », Warmeriville (© Yoann Rabasté).



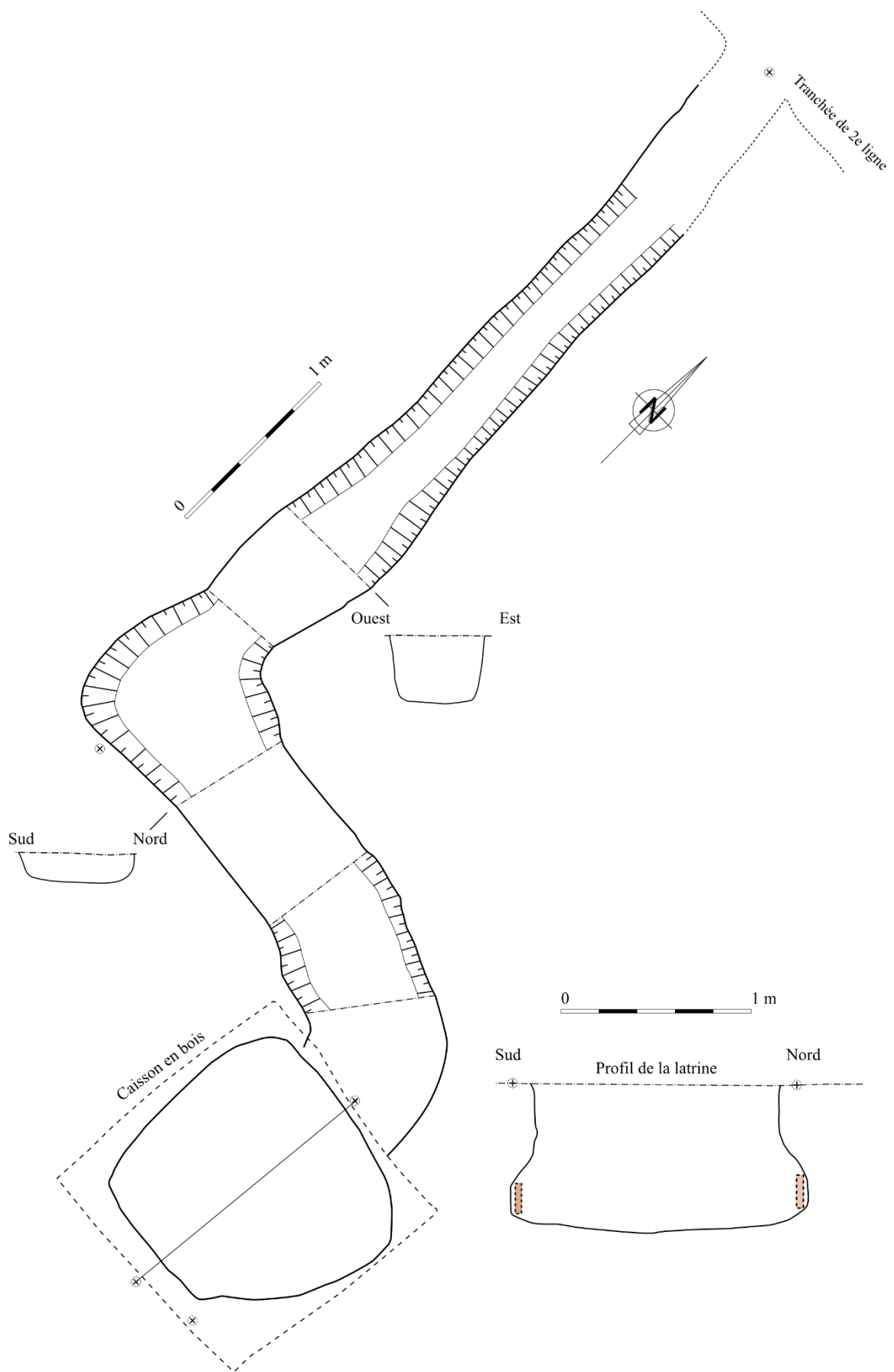
Annexe 8 – Latrines de la Grande Guerre (La82), Isles-sur-Suipe « Sohettes et Val des Bois », Warmeriville (© Yoann Rabasté).



Annexe 9 – Coupes stratigraphiques des latrines de la Grande Guerre (La82/ISS1 et La81/ISS2), Isles-sur-Suipe (ISS) « Sohettes et Val des Bois », Warmeriville (© Yoann Rabasté).



Annexe 10 – Échantillons latrinaires de la Grande Guerre, Isles-sur-Suipe (ISS) « Sohettes et Val des Bois », Warmeriville (© Anaïs Augias).



Annexe 11 - Plan de tranchée française de 2e ligne et des latrines du site Le Bonnet de Coton, Sevron - Melzicourt (©Jérôme Brenot).



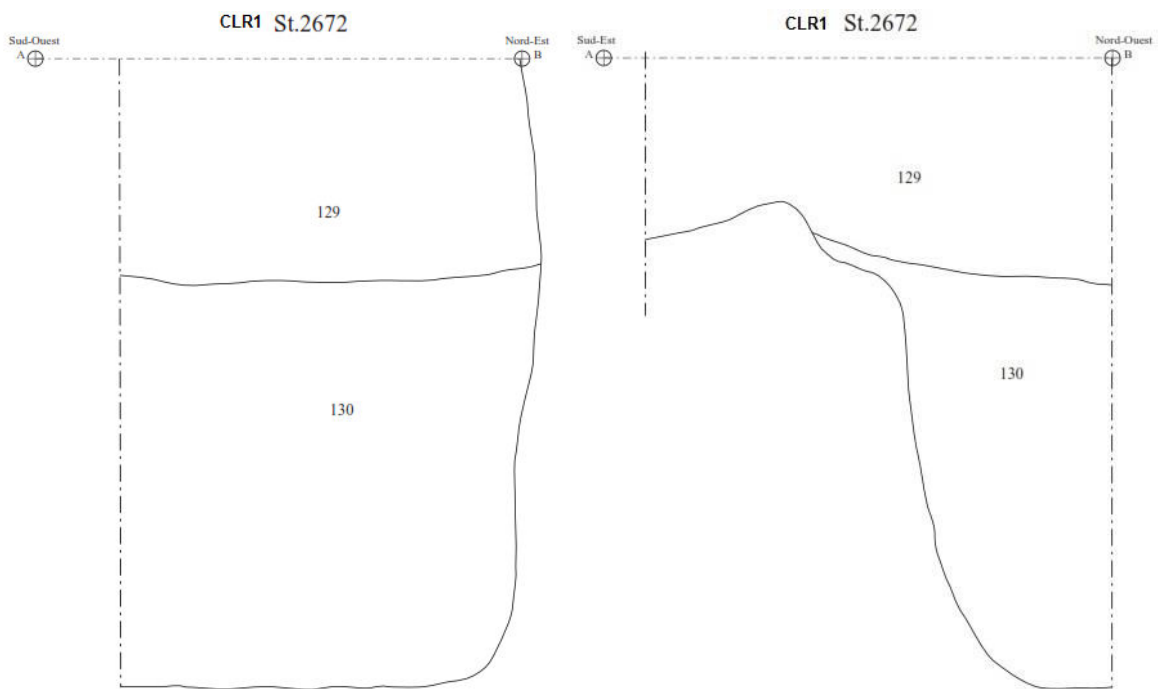
Annexe 12 - Échantillon latrinaire de tranchée française de 2e ligne, du site Le Bonnet de Coton, Sevron -Melzicourt (©Jérôme Brenot).



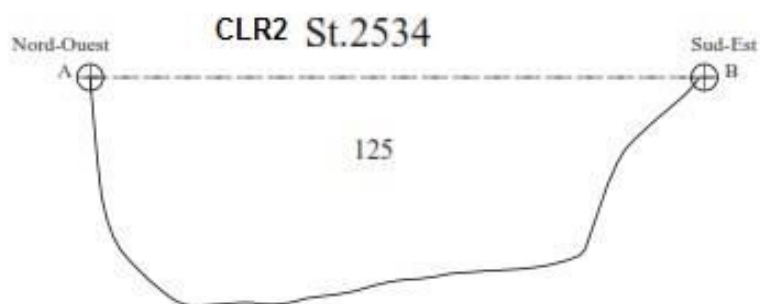
Annexe 13 – Plan général de la zone S9 du site de la Grande Guerre de Cernay-lès-Reims (© Yoann Rabasté).



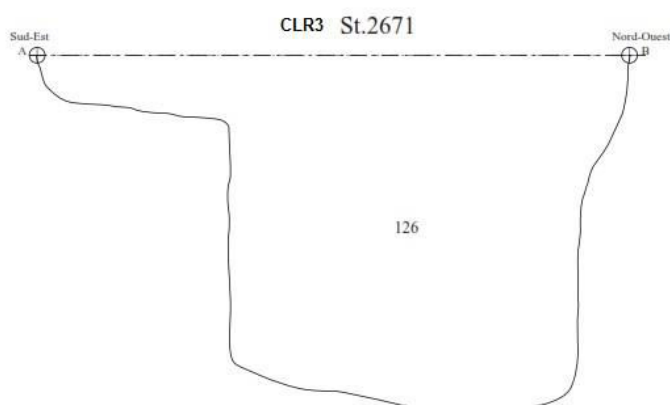
Annexe 14 – Détail du plan général de la zone S5 du site de la Grande Guerre de Cernay-lès-Reims (© Yoann Rabasté).



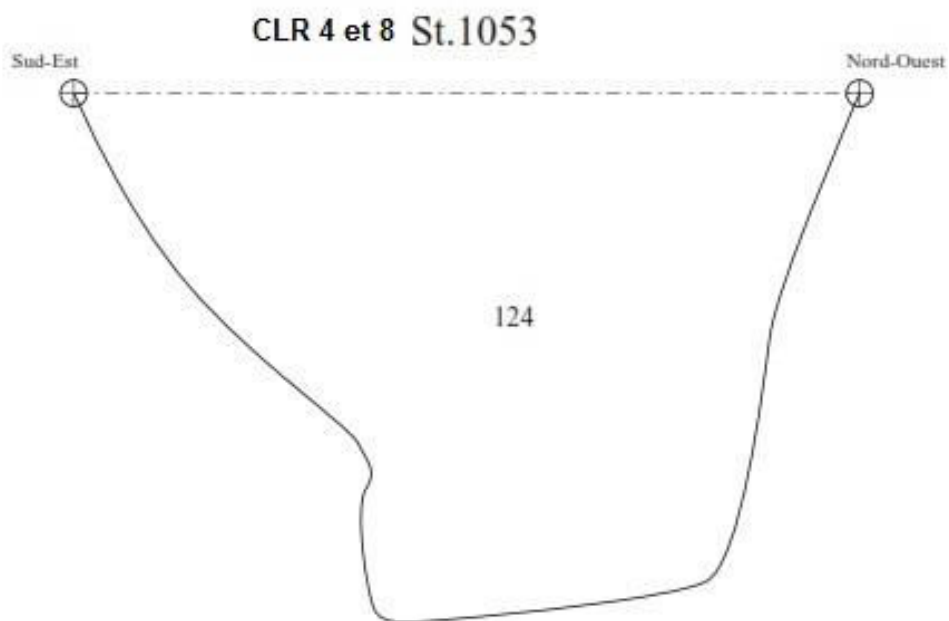
Annexe 15 – Coupe et relevé stratigraphique des latrines de la Grande Guerre, « Le bas de la Noue St Rémi », Cernay-lès-Reims CLR1 secteur 9 FT2672 US130 (© Yoann Rabasté).



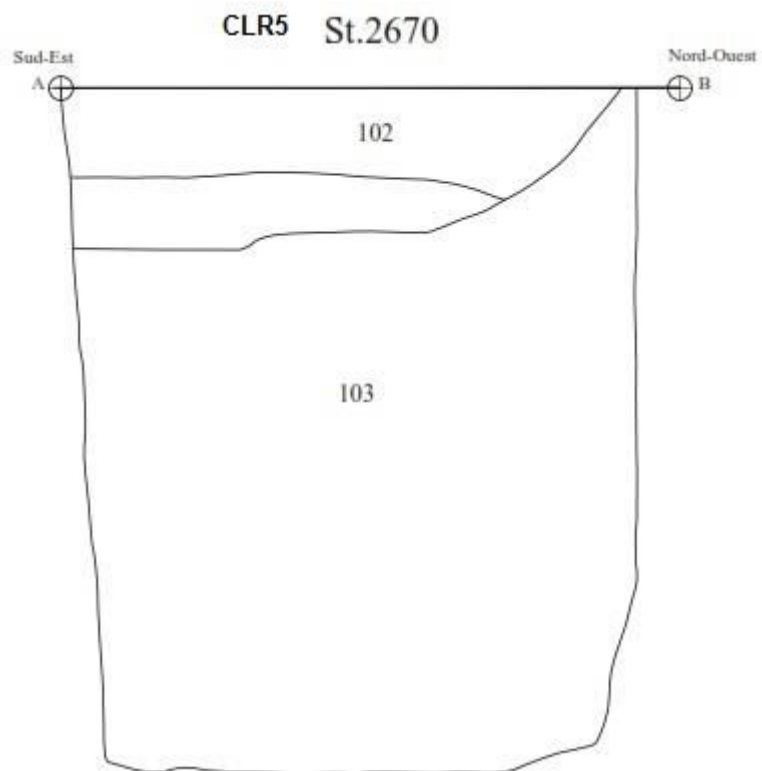
Annexe 16 – Coupe et relevé stratigraphique des latrines de la Grande Guerre, « Le bas de la Noue St Rémi », Cernay-lès-Reims CLR2 secteur 9 FT2534 (© Yoann Rabasté).



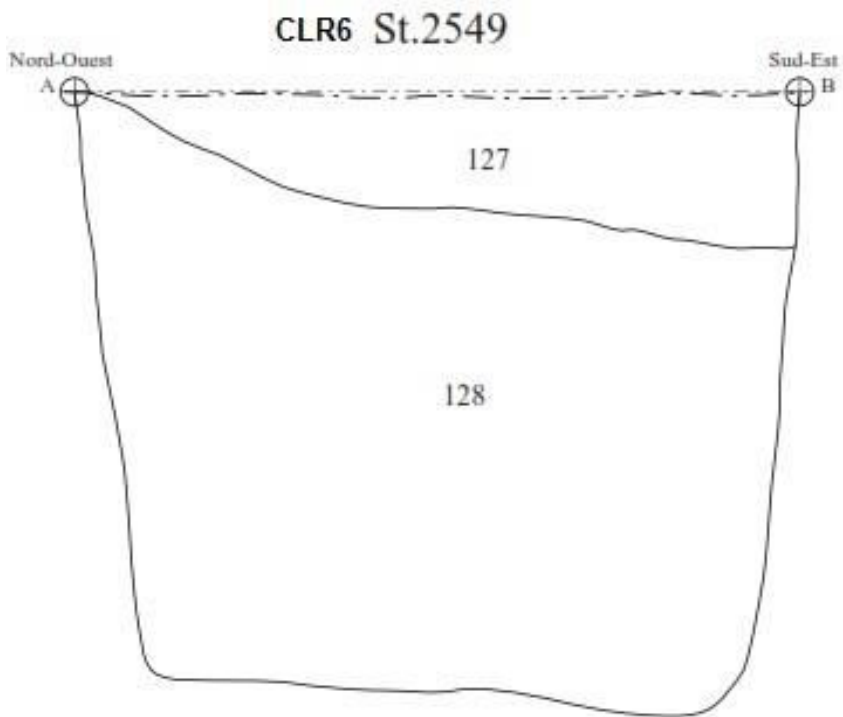
Annexe 17 – Relevé stratigraphique des latrines de la Grande Guerre, « Le bas de la Noue St Rémi », Cernay-lès-Reims CLR3 secteur 9 FT 2671 (© Yoann Rabasté).



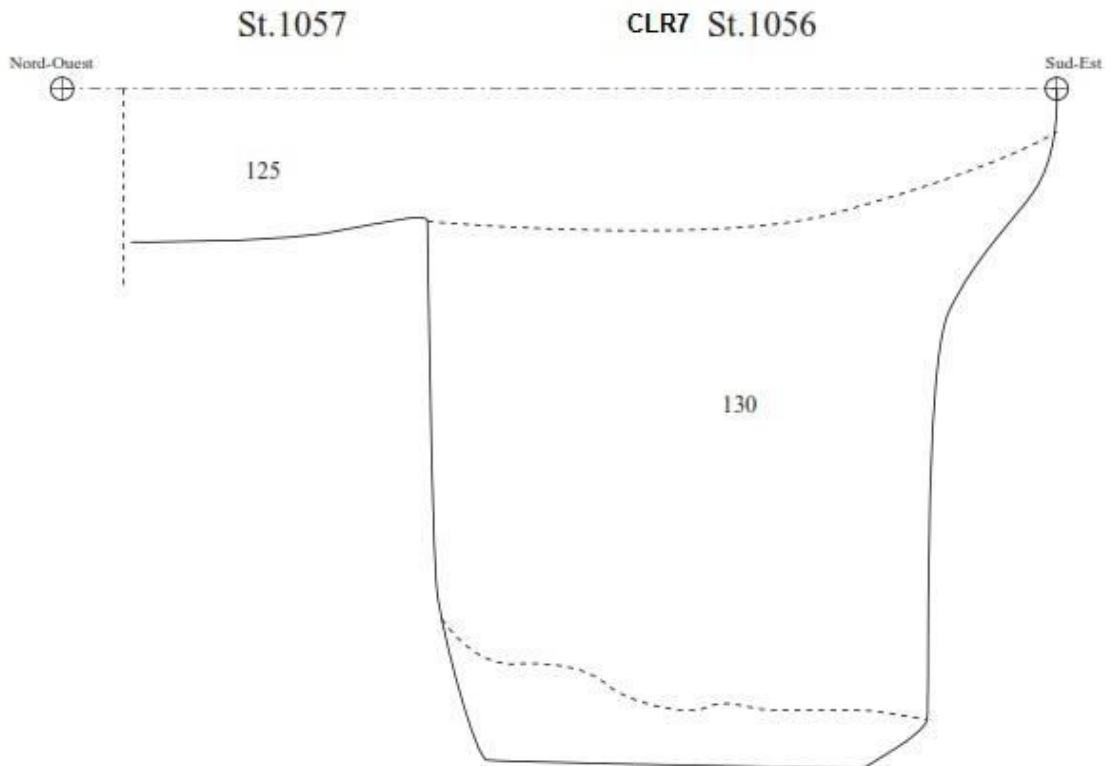
Annexe 18 – Coupe et relevé stratigraphiques des latrines de la Grande Guerre, « Le bas de la Noue St Rémi », Cernay-lès-Reims CLR4 et CLR8 secteur 5 FT1053 US124 (© Yoann Rabasté).



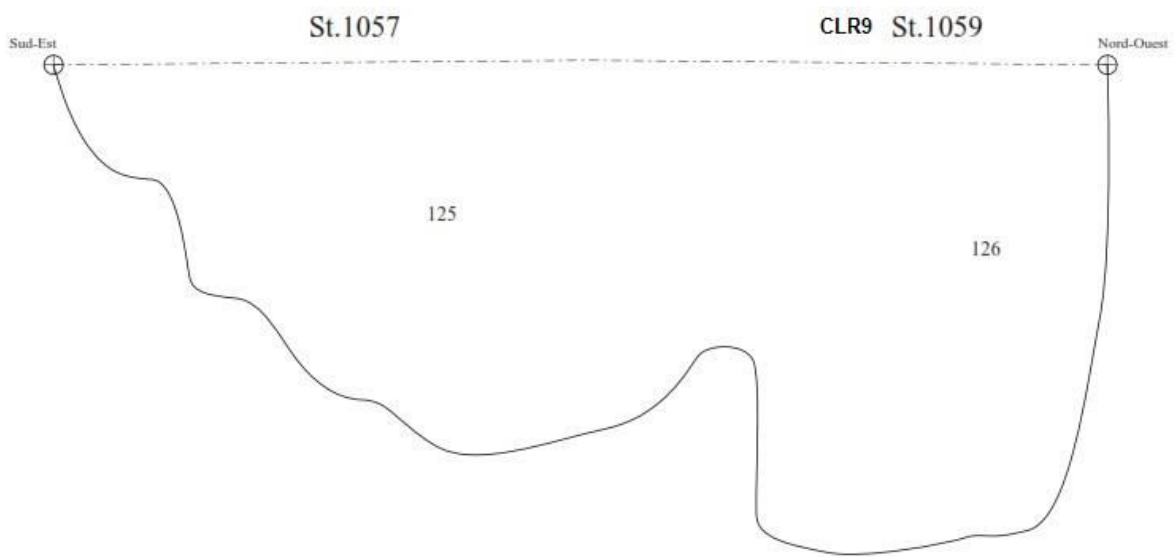
Annexe 19 – Coupe et relevé stratigraphiques des latrines de la Grande Guerre, « Le bas de la Noue St Rémi », Cernay-lès-Reims CLR5 secteur 9 FT2670 (© Yoann Rabasté).



Annexe 20 – Coupe et relevé stratigraphiques des latrines de la Grande Guerre, « Le bas de la Noue St Rémi », Cernay-lès-Reims CLR6 secteur 9 FT2549 (© Yoann Rabasté).



Annexe 21 – Coupe et relevé stratigraphiques des latrines de la Grande Guerre, « Le bas de la Noue St Rémi », Cernay-lès-Reims CLR7 secteur 5 FT1056 US130 (© Yoann Rabasté).



Annexe 22 – Coupe et relevé stratigraphiques des latrines de la Grande Guerre, « Le bas de la Noue St Rémi », Cernay-lès-Reims CLR9 secteur 5 FT1059 US126 (© Yoann Rabasté).



CLR1



CLR2



CLR3



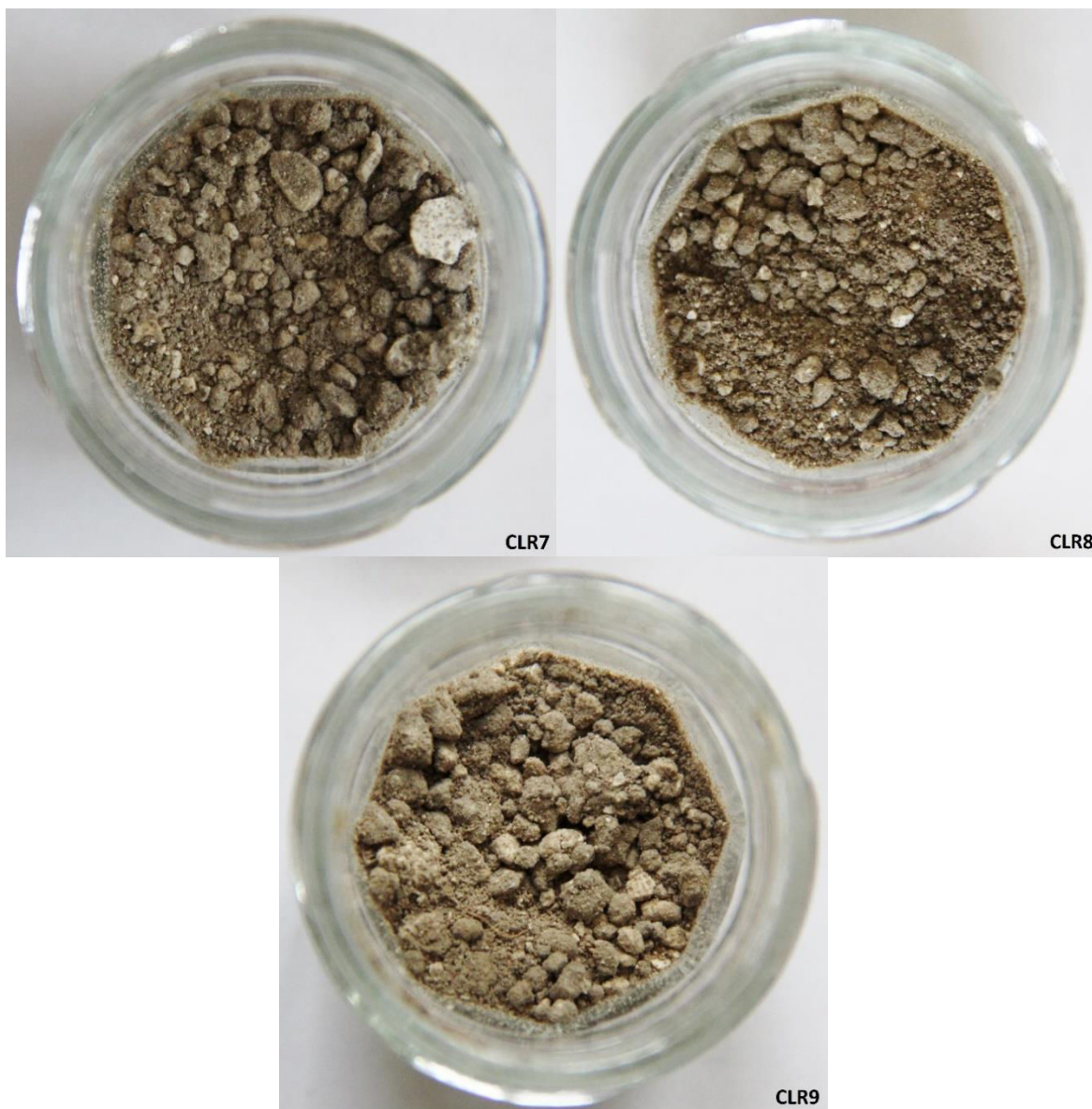
CLR4



CLR5



CLR6



Annexe 23 – Échantillons des latrines de la Grande Guerre, « Le bas de la Noue St Rémi », Cernay-lès-Reims (© Anaïs Augias).



STE1



STE2



STE3



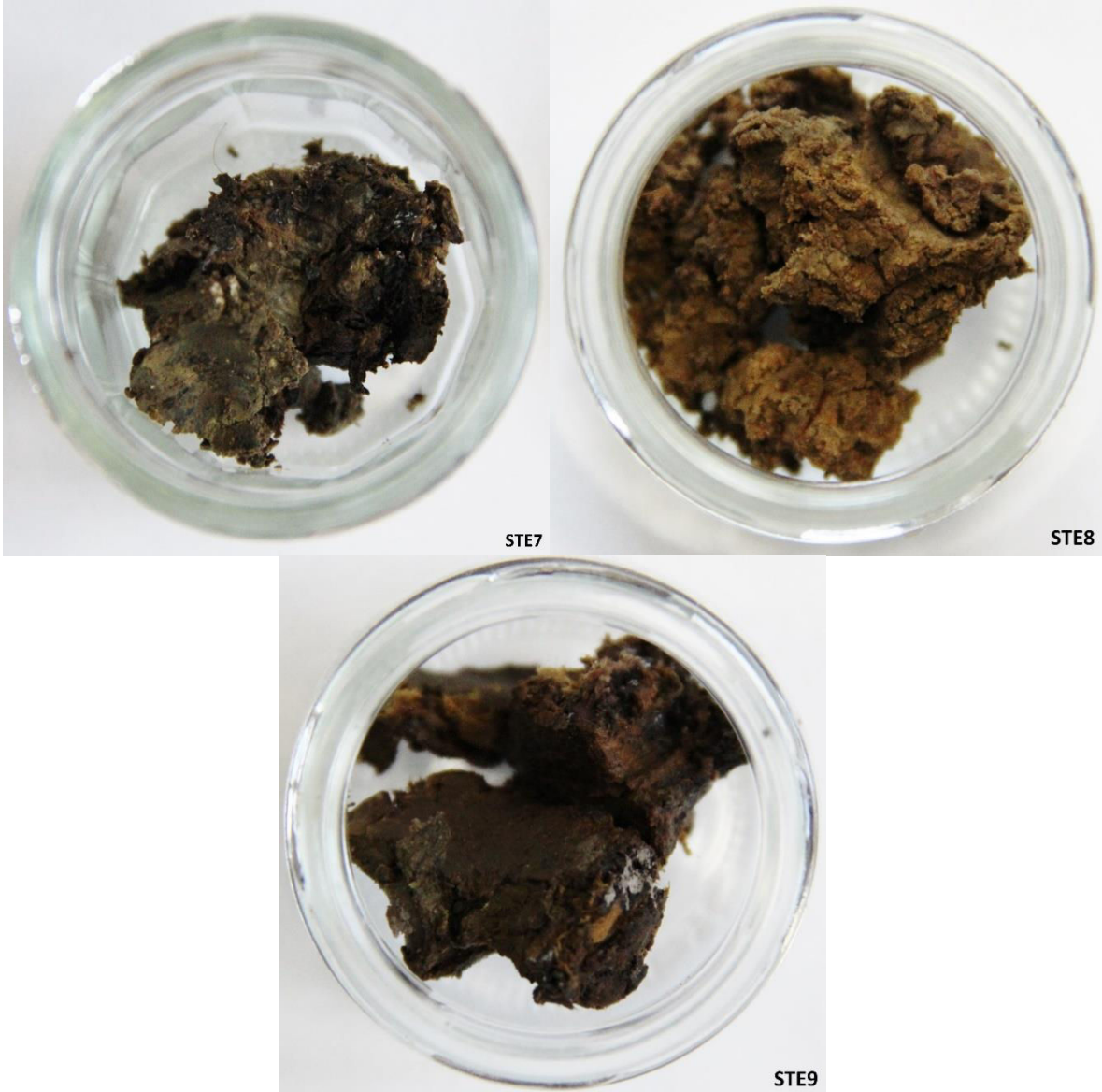
STE4



STE5



STE6



Annexe 24 – Échantillons latrinaires du camp de prisonniers allemands (Stenay) de 1945-1946
(©Anaïs Augias).

<i>Ech.</i>	<i>Poids (mg)</i>	<i>HNO3 (mL)</i>	<i>H2O (mL)</i>	<i>Total (mL)</i>	<i>Conc. (g/L)</i>
DEL	329,9	0,7	6,3	7,0	47,1
C34	1016,2	4,0	12,5	16,5	61,6
C35	429,4	1,8	7,2	9,0	47,7
C36	676,4	2,8	11,2	14,0	48,3
C47	354,3	1,4	5,6	7,0	50,6
C49	428,2	1,8	7,2	9,0	47,6
C51	188,8	0,8	3,2	4,0	47,2
C53	257,4	1,0	4,0	5,0	51,5
C55	307,9	1,2	4,8	6,0	51,3
C57	213,2	0,8	3,2	4,0	53,3
C59	280,7	1,2	4,8	6,0	46,8
C61	342,1	1,4	5,6	7,0	48,9
M20	1001,9	2,0	12,0	14,0	71,6
M21	352,9	1,4	5,6	7,0	50,4
M22	629,9	2,6	10,4	13,0	48,5
M23	608,9	1,2	10,8	12,0	50,7
M24	641,2	1,3	11,7	13,0	49,3
M25	819,8	1,6	12,0	13,6	60,3
M26	327,6	1,4	5,6	7,0	46,8
M27	268,8	1,0	4,0	5,0	53,8
SER	699,8	1,4	12,6	14,0	50,0
CLR 1	528,8	2,2	8,8	11,0	48,1
CLR 2	843,7	1,7	12,5	14,2	59,4
CLR 3	787,1	3,2	12,8	16,0	49,2
CLR 4	631,3	2,6	10,4	13,0	48,6
CLR 5	692,3	2,8	11,2	14,0	49,5
CLR 6	623,2	1,2	10,8	12,0	51,9
CLR 7	721,6	2,8	11,2	14,0	51,5
CLR 8	501	2,0	8,0	10,0	50,1
CLR 9	842,3	3,4	13,0	16,4	51,4
ISSI	830,2	3,4	13,0	16,4	50,6
ISS2	592,2	2,4	9,6	12,0	49,4
STE 1	318	1,2	4,8	6,0	53,0
STE 2	605,4	1,2	10,8	12,0	50,5
STE 3	300	1,2	4,8	6,0	50,0
STE 4	189	0,8	3,2	4,0	47,3
STE 5	730,6	1,5	13,5	15,0	48,7

STE 6	1408	2,8	12,0	14,8	95,1
STE 7	166,6	0,6	2,4	3,0	55,5
STE 8	662,7	1,3	11,7	13,0	51,0
STE 9	188,5	0,8	3,2	4,0	47,1
BOS	250,1	1,0	4,0	5,0	50,0

Annexe 25 - Protocole d'analyses
élémentaires de la totalité des échantillons (©
Joël Poupon, Anaïs Augias).

	DEL	C34	C35	C36	C47	C49	C51	C53	C55	C57	C59	C61	M20	M21	M22	M23	M24	M25	M26	M27
Li	95	10	5	5	5	4	5	5	5	6	6	5	19	10	16	15	10	15	8	23
Be	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	0	1
B	2	5	7	2	7	36	51	32	80	50	43	12	12	22	17	15	10	5	15	23
Na	1 423	595	350	353	520	243	341	398	507	496	406	221	456	120	191	141	173	187	183	948
Mg	10 630	2 047	1 532	1 482	1 716	1 397	1 597	1 686	2 019	1 787	1 987	1 499	2 564	3 813	1 945	1 972	1 194	1 630	1 418	2 879
Al	15 032	4 878	2 949	2 379	3 244	2 508	2 933	2 745	3 433	3 497	3 364	2 400	7 662	7 292	5 412	4 950	2 549	5 566	2 891	8 620
Si	118	27	30	20	45	44	85	61	86	84	68	42	50	44	36	38	85	42	96	166
P	5 135	192	10 419	11 291	7 130	4 825	7 507	10 490	11 492	15 286	10 525	4 968	2 984	1 589	6 176	5 481	5 586	6 404	6 159	082
K	4 544	294	177	138	295	214	250	224	459	307	275	178	736	575	540	534	321	487	232	767
Ca	0	229 531	285 973	227 154	389 324	225 043	228 167	235 347	230 950	223 304	227 851	242 908	101 899	92 131	73 738	84 925	69 602	88 491	79 430	134 964
Sc	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2
Ti	829	604	805	570	948	561	560	568	576	585	565	584	213	205	158	164	150	220	219	390
V	33	18	18	12	40	13	14	20	14	60	14	18	27	16	16	12	13	15	15	32
Cr	24	14	12	9	18	8	9	9	10	13	10	10	17	14	14	11	9	13	7	19
Mn	331	634	510	303	1 151	321	684	873	975	690	1 007	495	336	231	492	293	130	251	247	712
Fe	17 223	5 869	2 620	3 400	6 788	2 934	4 237	3 641	4 575	4 888	3 970	4 626	9 465	8 045	7 281	5 864	3 991	10 228	15 555	17 413
Co	8	4	3	3	4	3	4	3	3	3	3	3	6	7	7	9	4	7	7	13
Ni	30	25	22	17	33	19	23	21	25	28	22	22	20	20	18	15	13	23	20	42
Cu	28	56	50	52	41	24	33	39	40	54	28	29	286	17	51	54	79	258	121	369
Zn	55	91	72	79	188	45	64	210	85	562	57	61	23	19	66	68	23	112	161	795
Ga	5	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3
As	3	3	1	2	5	3	3	2	4	8	3	5	11	8	9	6	5	10	21	20
Br	10	0	0	0	192	36	1	0	40	19	0	82	0	0	0	13	0	0	0	0
Rb	53	3	2	1	4	2	2	2	3	3	3	3	5	5	6	5	3	5	3	8
Sr	265	423	478	345	501	272	268	261	294	295	285	294	307	408	179	228	87	235	140	500
Y	9	4	4	3	6	3	2	2	3	3	3	4	5	2	3	3	2	4	3	6
Zr	2	5	3	3	5	3	3	2	3	4	3	4	4	4	2	3	2	5	9	7
Nb	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Mo	0	1	1	0	4	4	4	7	5	4	13	3	4	0	0	1	0	1	0	0	9	7
Ag	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	37	3	6	19	3	13	64	36	36
Cd	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Sn	2	3	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	29	38	62	54	37	83	50	281	281
Sb	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	2	2
I	23	4	5	6	14	10	10	8	5	9	7	5	16	10	4	6	7	4	5	2	2	2
Cs	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Ba	41	178	194	100	190	150	146	146	130	224	159	162	102	67	35	29	32	7	43	73	153	153
La	10	5	5	3	7	3	3	3	2	3	3	3	4	7	4	4	4	3	6	4	7	7
Ce	19	10	9	6	12	6	5	5	4	6	6	6	7	16	7	10	9	6	18	8	13	13
Pr	2	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	2	2
Nd	10	5	5	3	6	3	3	3	2	3	3	3	4	8	3	4	3	3	6	4	7	7
Sm	2	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1
Eu	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gd	3	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	2	2
Dy	2	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1
Er	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Yb	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Au	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
Hg	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	6	10	3	28	6	26	26
Pb	113	14	14	14	20	6	6	6	9	8	18	6	11	3 059	2 614	7 708	3 286	13 787	6 125	951	813	813
Bi	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	1	1	1	0	1	1
Th	13	3	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	2	3	2	2	2	1	3	2	3	3
U	0	0	6	6	4	4	3	3	2	2	4	3	5	1	1	2	2	3	2	2	2	8

Annexe 26 - Analyses élémentaires des dépôts latrinaires anciens (© Joël Poupon, Anaïs Augias).

	CT	CH	Delos	%	Présence	Moyenne Chambly	%	Présence
Li	0	0	95	0,169	Mineure	5	0,002	Trace
Be	2,6	0,0005	2	0,003	Trace	0	0,000	Nulle
B	10	0,26	2	0,003	Trace	30	0,011	Mineure
Na	23000	1430	1 423	2,535	Majeure	403	0,148	Mineure
Mg	23000	271	10 630	18,937	Majeure	1 704	0,626	Mineure
Al	82000	0,87	15 032	26,777	Majeure	3 121	1,147	Majeure
Si	277000	14	118	0,211	Mineure	54	0,020	Mineure
P	1000	11140	5 135	9,147	Majeure	10 375	3,814	Majeure
K	21000	2000	4 544	8,095	Majeure	255	0,094	Mineure
Ca	41000	14300	0	0,000	Nulle	249 596	91,757	Majeure
Sc	0	0	3	0,005	Trace	1	0,000	Nulle
Ti	0	0	829	1,477	Majeure	630	0,232	Mineure
V	160	0,0016	33	0,059	Mineure	22	0,008	Trace
Cr	100	0,2	24	0,043	Mineure	11	0,004	Trace
Mn	950	0,17	331	0,589	Mineure	695	0,255	Mineure
Fe	41000	60	17 223	30,681	Majeure	4 323	1,589	Majeure
Co	20	0,02	8	0,015	Mineure	3	0,001	Trace
Ni	80	0,01	30	0,053	Mineure	23	0,008	Trace
Cu	50	1	28	0,049	Mineure	41	0,015	Mineure
Zn	75	33	55	0,098	Mineure	138	0,051	Mineure
Ga	0	0	5	0,008	Trace	1	0,000	Nulle
As	1,5	0,26	3	0,005	Trace	4	0,001	Trace
Se	0,05	0,2	0	0,000	Nulle	0	0,000	Nulle
Br	0	0	10	0,019	Mineure	34	0,012	Mineure
Rb	0	0	53	0,094	Mineure	3	0,001	Trace
Sr	370	4,6	265	0,472	Mineure	338	0,124	Mineure
Y	0	0	9	0,016	Mineure	3	0,001	Trace
Zr	0	0	2	0,003	Trace	3	0,001	Trace
Nb	0	0	1	0,002	Trace	0	0,000	Nulle
Mo	1,5	0,07	0	0,000	Nulle	4	0,001	Trace
Cd	0,11	0,71	0	0,000	Nulle	0	0,000	Nulle
Sn	0	0	2	0,003	Trace	1	0,000	Nulle
I	0	0	23	0,040	Mineure	8	0,003	Trace
Cs	0	0	3	0,005	Trace	0	0,000	Nulle
Ba	500	0,31	41	0,074	Mineure	158	0,058	Mineure
La	0	0	10	0,017	Mineure	4	0,001	Trace
Ce	0	0	19	0,034	Mineure	7	0,003	Trace
Pr	0	0	2	0,004	Trace	1	0,000	Nulle
Nd	0	0	10	0,018	Mineure	4	0,001	Trace
Sm	0	0	2	0,004	Trace	1	0,000	Nulle
Gd	0	0	3	0,005	Trace	1	0,000	Nulle
Dy	0	0	2	0,003	Trace	1	0,000	Nulle
Er	0	0	1	0,002	Trace	0	0,000	Nulle
Yb	0	0	1	0,001	Trace	0	0,000	Nulle
Pb	14	1,7	113	0,201	Mineure	11	0,004	Mineure
Th	0	0	13	0,022	Mineure	2	0,001	Mineure

Annexe 27 - Analyses élémentaires des latrines des sites de Délos et de la Maison-forte de Chambly
(© Anaïs Augias).

	CT	CH	Moyenne Pavillon royal	%	Moyenne 3e pavillon	%	Moyenne totale	%	Présence
Li	0	0	14	0,012	15	0,009	15	0,012	Mineure
Be	2,6	0,0005	1	0,001	1	0,001	1	0,001	Trace
B	10	0,26	14	0,012	19	0,011	15	0,012	Mineure
Na	23000	1430	211	0,187	565	0,332	300	0,236	Mineure
Mg	23000	271	2 186	1,933	2148	1,262	2 177	1,710	Majeure
Al	82000	0,87	5 572	4,927	5755	3,382	5 618	4,413	Majeure
Si	277000	14	49	0,043	131	0,077	70	0,055	Mineure
P	1000	11140	4 703	4,158	34120	20,053	12 058	9,472	Majeure
K	21000	2000	532	0,470	499	0,293	524	0,412	Mineure
Ca	41000	14300	85 131	75,271	107197	63,002	90 648	71,205	Majeure
Sc	0	0	1	0,001	1	0,001	1	0,001	Trace
Ti	0	0	185	0,164	305	0,179	215	0,169	Mineure
V	160	0,0016	17	0,015	24	0,014	18	0,014	Mineure
Cr	100	0,2	13	0,011	12	0,007	13	0,010	Mineure
Mn	950	0,17	289	0,256	479	0,282	336	0,264	Mineure
Fe	41000	60	7 479	6,613	16484	9,688	9 730	7,643	Majeure
Co	20	0,02	6	0,005	10	0,006	7	0,005	Trace
Ni	80	0,01	18	0,016	31	0,018	21	0,016	Mineure
Cu	50	1	124	0,110	245	0,144	155	0,122	Mineure
Zn	75	33	52	0,046	478	0,281	158	0,124	Mineure
Ga	0	0	1	0,001	2	0,001	1	0,001	Trace
As	1,5	0,26	8	0,007	20	0,012	11	0,009	Trace
Br	0	0	2	0,002	0	0,000	2	0,002	Trace
Rb	0	0	5	0,004	5	0,003	5	0,004	Trace
Sr	370	4,6	241	0,213	320	0,188	260	0,204	Mineure
Y	0	0	3	0,003	4	0,002	3	0,002	Trace
Zr	0	0	3	0,003	8	0,005	5	0,004	Trace
Mo	1,5	0,07	0	0,000	8	0,005	2	0,002	Trace
Ag	0	0	13	0,011	50	0,029	23	0,018	Mineure
Sn	0	0	51	0,045	166	0,098	19	0,015	Mineure
Sb	0	0	1	0,001	1	0,001	1	0,001	Trace
I	0	0	6	0,005	2	0,001	5	0,004	Trace
Ba	500	0,31	36	0,032	113	0,066	55	0,043	Mineure
La	0	0	5	0,004	5	0,003	5	0,004	Trace
Ce	0	0	11	0,010	10	0,006	11	0,009	Trace
Pr	0	0	1	0,001	1	0,001	1	0,001	Trace
Nd	0	0	4	0,004	5	0,003	5	0,004	Trace
Sm	0	0	1	0,001	1	0,001	1	0,001	Trace
Gd	0	0	1	0,001	1	0,001	1	0,001	Trace
Dy	0	0	1	0,001	1	0,001	1	0,001	Trace
Au	0	0	0	0,000	1	0,001	0	0,000	Trace
Hg	0	0	8	0,007	16	0,009	10	0,008	Trace
Pb	14	1,7	6 096	5,390	882	0,518	4 793	3,765	Majeure
Bi	0	0	1	0,001	1	0,001	1	0,001	Trace
Th	0	0	2	0,002	2	0,001	2	0,002	Trace
U	0	0	2	0,002	5	0,003	2	0,002	Trace

Annexe 28 - Analyses élémentaires des latrines du château de Marly (© Anaïs Augias).

	ISS1	ISS2	SER	CLR1	CLR2	CLR3	CLR4	CLR5	CLR6	CLR7	CLR8	CLR9	STE1	STE2	STE3	STE4	STE6	STE7	STE8	STE9	BOS
Li	9	12	27	15	13	9	8	10	8	9	10	8	10	61	32	3	65	2	72	2	1
Be	0	1	4	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2	1	0	3	0	4	0	0
B	5	5	0	2	3	3	3	2	2	2	2	2	10	0	9	22	1	47	1	42	11
Na	235	374	141	268	225	213	229	237	915	244	288	213	734	904	2	667	244	3 907	135	1	989
Mg	2 040	2 876	1 659	1 841	1 662	1 495	1 304	1 578	1 927	1 312	1 411	1 201	25	6	33	19	4	54	3	22	2
Al	3 997	5 698	22 120	6 912	5 700	3 964	4 053	4 292	4 065	4 106	4 844	3 554	351	20	12	2	19	1 954	30	1	511
Si	63	77	100	58	61	77	47	102	41	84	67	32	188	86	282	230	64	234	76	245	205
P	11 737	24 110	1 995	1 775	1 558	1 352	1 727	1 241	3 346	1 394	2 180	1 561	37	8	61	91	6	116	973	43	24
K	280	416	914	637	349	302	223	411	317	269	264	211	617	1	1	644	2	1 525	1	626	1
Ca	203 543	193 449	18 064	230 594	198 432	200 552	199 450	219 946	235 743	209 695	209 870	193 526	34	0	44	71	5	115	5	40	48
Sc	2	2	7	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	4	2	0	5	1	7	0	0
Ti	462	393	2	531	422	419	431	461	521	433	429	383	98	44	82	176	18	256	2	112	13
V	15	16	21	14	12	9	9	9	8	10	10	7	15	33	27	8	38	12	46	5	3
Cr	18	10	32	8	12	5	6	6	5	6	6	5	116	33	27	49	39	19	52	47	7
Mn	359	406	1 063	347	276	204	245	210	312	264	269	201	678	581	691	890	3	1 165	879	194	124
Fe	5 381	6 813	34 511	4 767	6 495	3 004	3 039	3 751	2 904	3 068	3 418	2 786	12	26	17	19	29	6 613	48	3	772
Co	4	5	40	4	4	3	3	4	4	4	4	3	5	15	7	10	29	4	31	2	1
Ni	25	27	41	20	20	14	14	17	18	17	17	14	42	40	44	85	29	37	55	41	10

Cu	50	52	52	11	13	6	8	8	14	7	10	7	202	39	136	274	22	191	16	262	92
Zn	296	308	48	15	21	9	27	12	41	13	39	38	1	263	716	2	110	1 312	228	2	510
Ga	1	1	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	3	3	2	5	3	5	1	1
As	2	2	8	4	3	1	4	2	3	2	4	1	10	5	3	28	6	3	18	3	1
Br	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	3	6	0	0	0	0
Rb	3	4	15	6	3	3	3	3	3	3	4	3	11	11	16	4	19	22	15	6	1
Sr	492	486	26	557	461	466	497	541	673	512	513	466	101	25	152	141	17	274	13	44	85
Y	8	8	19	12	8	7	9	8	8	9	10	8	2	8	4	1	13	0	18	1	0
Zr	3	5	13	3	2	1	1	2	2	1	1	1	2	17	6	1	19	1	18	1	1
Nb	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Mo	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	1	11	23	0	15	0	24	3
Ag	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2	0	3	0	2	2
Cd	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	4	1	2	0	2	1
Sn	20	41	2	0	2	0	1	1	12	1	2	1	91	98	440	631	13	159	17	111	3
Sb	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	7	0	2	0	3	0
I	4	7	1	5	6	4	5	3	3	5	5	4	3	2	3	3	3	2	3	2	2
Cs	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
Ba	170	127	94	41	60	21	24	28	91	23	34	20	109	76	112	126	64	183	64	62	43
La	7	8	28	12	8	7	9	8	8	9	10	8	2	10	6	1	20	0	22	1	0
Ce	8	9	73	12	8	6	8	7	8	8	9	7	5	26	19	2	124	1	67	1	1
Pr	1	2	7	2	1	1	2	1	2	2	2	1	1	3	2	0	5	0	6	0	0
Nd	6	6	30	9	6	5	6	6	7	6	8	6	2	13	7	1	21	0	26	1	0
Sm	1	1	6	2	1	1	1	1	1	1	2	1	0	3	1	0	4	0	6	0	0
Eu	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0

Gd	2	2	2	3	2	1	2	2	2	2	2	2	1	3	2	0	5	0	7	0	0
Tb	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
Dy	1	1	4	2	1	1	1	1	1	1	1	1	0	2	1	0	3	0	4	0	0
Ho	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
Er	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	2	0	0
Yb	1	0	2	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	2	0	0
Hg	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	3	58	0	3	0	1	0
Pb	24	23	32	30	33	10	10	19	19	9	14	12	26	43	41	40	37	38	24	53	4
Bi	8	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	300	1	5	162	2	3	0	1	1
Th	1	2	16	2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	11	3	0	13	1	18	2	0
U	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	0	1

Annexe 29 - Analyses élémentaires des dépôts latrinaires récents (© Joël Poupon, Anaïs Augias).

	CT	CH	ISS	%	Présence	SEF	%	Présence	Moyenne CLR	%	Présence
Li	0	0	11	0,005	Trace	27	0,034	Mineure	10	0,072	Mineure
Be	2,6	0,0005	0	0,000	Nulle	4	0,005	Trace	0	0,000	Nulle
B	10	0,26	5	0,002	Trace	0	0,000	Nulle	2	0,014	Mineure
Na	23000	1430	304	0,131	Mineure	141	0,174	Mineure	315	2,255	Majeure
Mg	23000	271	2458	1,057	Majeure	1659	2,043	Majeure	1526	10,927	Majeure
Al	82000	0,87	4848	2,086	Majeure	22120	27,229	Majeure	4610	33,009	Majeure
Si	277000	14	70	0,030	Majeure	100	0,123	Mineure	63	0,451	Mineure
P	1000	11140	17924	7,711	Majeure	1995	2,456	Majeure	1793	12,838	Majeure
K	21000	2000	348	0,150	Mineure	914	1,126	Majeure	332	2,377	Majeure
Ca	41000	14300	198496	85,392	Majeure	18064	22,236	Majeure	210	1,504	Majeure
Sc	0	0	2	0,001	Trace	7	0,008	Trace	1	0,007	Trace
Ti	0	0	428	0,184	Mineure	2	0,002	Trace	448	3,208	Majeure
V	160	0,0016	15	0,006	Trace	21	0,026	Mineure	10	0,072	Mineure
Cr	100	0,2	14	0,006	Trace	32	0,040	Mineure	7	0,050	Mineure
Mn	950	0,17	382	0,164	Mineure	1063	1,308	Majeure	259	1,855	Majeure
Fe	41000	60	6097	2,623	Majeure	34511	42,482	Majeure	3692	26,436	Majeure
Co	20	0,02	4	0,002	Trace	40	0,049	Mineure	4	0,029	Mineure
Ni	80	0,01	26	0,011	Mineure	41	0,051	Mineure	17	0,122	Mineure
Cu	50	1	51	0,022	Mineure	52	0,064	Mineure	9	0,064	Mineure
Zn	75	33	302	0,130	Mineure	48	0,059	Mineure	24	0,172	Mineure
Ga	0	0	1	0,000	Nulle	4	0,005	Trace	1	0,007	Trace
As	1,5	0,26	2	0,001	Trace	8	0,009	Trace	3	0,021	Mineure
Se	0,05	0,2	0	0,000	Nulle	0	0,000	Nulle	0	0,000	Nulle
Br	0	0	4	0,002	Trace	0	0,000	Nulle	0	0,000	Nulle
Rb	0	0	3	0,001	Trace	15	0,018	Mineure	3	0,021	Mineure
Sr	370	4,6	489	0,210	Mineure	26	0,032	Mineure	521	3,730	Majeure
Y	0	0	8	0,003	Trace	19	0,023	Mineure	9	0,064	Mineure
Zr	0	0	4	0,002	Trace	13	0,017	Mineure	2	0,014	Mineure
Mo	1,5	0,07	1	0,000	Nulle	0	0,000	Nulle	0	0,000	Nulle
Cd	0,11	0,71	1	0,000	Nulle	0	0,000	Nulle	0	0,000	Nulle
Sn	0	0	31	0,013	Mineure	2	0,003	Trace	2	0,014	Mineure
I	0	0	6	0,003	Trace	1	0,001	Trace	4	0,029	Mineure
Ba	500	0,31	148	0,064	Mineure	94	0,116	Mineure	38	0,272	Mineure
La	0	0	7	0,003	Trace	28	0,035	Mineure	9	0,064	Mineure
Ce	0	0	8	0,003	Trace	73	0,090	Mineure	8	0,057	Mineure
Pr	0	0	1	0,000	Nulle	7	0,009	Trace	2	0,014	Mineure
Nd	0	0	6	0,003	Trace	30	0,037	Mineure	7	0,050	Mineure
Sm	0	0	1	0,000	Nulle	6	0,008	Trace	1	0,007	Trace
Eu	0	0	0	0,000	Nulle	1	0,002	Trace	0	0,000	Nulle
Gd	0	0	2	0,001	Trace	7	0,009	Trace	2	0,014	Mineure

Tb	0	0	0	0,000	Nulle	1	0,001	Trace	0	0,000	Nulle
Dy	0	0	1	0,000	Nulle	4	0,005	Trace	1	0,007	Trace
Ho	0	0	0	0,000	Nulle	1	0,001	Trace	0	0,000	Nulle
Er	0	0	1	0,000	Nulle	2	0,002	Trace	1	0,007	Trace
Yb	0	0	1	0,000	Nulle	2	0,002	Trace	1	0,007	Trace
Hg	0	0	2	0,001	Trace	0	0,000	Nulle	0	0,000	Nulle
Pb	14	1,7	24	0,010	Mineure	32	0,040	Mineure	17	0,122	Mineure
Bi	0	0	5	0,002	Trace	2	0,002	Trace	0	0,000	Nulle
Th	0	0	2	0,001	Trace	16	0,019	Mineure	1	0,007	Trace
U	0	0	1	0,000	Nulle	1	0,001	Trace	1	0,007	Trace

Annexe 30 - Analyses élémentaires des latrines de la Grande Guerre (© Anaïs Augias).

	CT	CH	Moyenne STE	%	Présence	BOS	% BOS	Présence
Li	0	0	31	0,021	Mineure	1	0,002	Trace
Be	2,6	0,0005	1	0,001	Trace	0	0,000	Nulle
B	10	0,26	16	0,011	Mineure	11	0,014	Mineure
Na	23000	1430	1 387	0,958	Mineure	989	1,228	Majeure
Mg	23000	271	21 096	14,565	Majeure	2 772	3,445	Majeure
Al	82000	0,87	11 664	8,053	Majeure	511	0,635	Mineure
Si	277000	14	176	0,122	Mineure	205	0,254	Mineure
P	1000	11140	45 805	31,624	Majeure	24 119	29,968	Majeure
K	21000	2000	1 385	0,956	Mineure	1 777	2,208	Majeure
Ca	41000	14300	39 636	27,365	Majeure	48 414	60,155	Majeure
Sc	0	0	3	0,002	Trace	0	0,000	Nulle
Ti	0	0	99	0,068	Mineure	13	0,016	Mineure
V	160	0,0016	23	0,016	Mineure	3	0,003	Trace
Cr	100	0,2	48	0,033	Mineure	7	0,009	Trace
Mn	950	0,17	1 076	0,743	Mineure	124	0,154	Mineure
Fe	41000	60	20 468	14,131	Majeure	772	0,959	Mineure
Co	20	0,02	13	0,009	Trace	1	0,002	Trace
Ni	80	0,01	47	0,032	Mineure	10	0,013	Mineure
Cu	50	1	143	0,099	Mineure	92	0,114	Mineure
Zn	75	33	1 102	0,761	Mineure	510	0,634	Mineure
Ga	0	0	3	0,002	Trace	1	0,001	Trace
As	1,5	0,26	10	0,007	Trace	1	0,001	Trace
Br	0	0	2	0,001	Trace	0	0,000	Nulle
Rb	0	0	13	0,009	Trace	1	0,002	Trace
Sr	370	4,6	96	0,066	Mineure	85	0,106	Mineure
Y	0	0	6	0,004	Trace	0	0,000	Nulle
Zr	0	0	8	0,006	Trace	1	0,002	Trace
Mo	1,5	0,07	11	0,008	Trace	3	0,004	Trace
Ag	0	0	1	0,001	Trace	2	0,002	Trace
Cd	0,11	0,71	2	0,001	Trace	1	0,001	Trace
Sn	0	0	195	0,135	Mineure	3	0,004	Trace
Sb	0	0	2	0,001	Trace	0	0,000	Nulle
I	0	0	3	0,002	Trace	2	0,002	Trace
Cs	0	0	0	0,000	Nulle	0	0,000	Nulle
Ba	500	0,31	100	0,069	Mineure	43	0,053	Mineure
La	0	0	8	0,006	Trace	0	0,000	Nulle
Ce	0	0	31	0,021	Mineure	1	0,001	Trace
Pr	0	0	2	0,001	Trace	0	0,000	Nulle
Nd	0	0	9	0,006	Trace	0	0,000	Nulle
Sm	0	0	2	0,001	Trace	0	0,000	Nulle
Eu	0	0	1	0,001	Trace	0	0,000	Nulle
Gd	0	0	2	0,001	Trace	0	0,000	Nulle
Dy	0	0	1	0,001	Trace	0	0,000	Nulle
Er	0	0	1	0,001	Trace	0	0,000	Nulle
Yb	0	0	1	0,001	Trace	0	0,000	Nulle
Hg	0	0	9	0,006	Trace	0	0,000	Nulle
Pb	14	1,7	38	0,026	Mineure	4	0,004	Trace
Bi	0	0	59	0,041	Mineure	1	0,001	Trace
Th	0	0	6	0,004	Trace	0	0,000	Nulle
U	0	0	1	0,001	Trace	1	0,001	Trace

Annexe 31 - Analyses élémentaires des latrines de la deuxième guerre et actuelles (© Anaïs Augias).

<i>Ech.</i>	<i>Site</i>	<i>Kit ext.</i>	<i>Date</i>	<i>Conc. ADN</i>	<i>A260</i>	<i>A280</i>	<i>260/280</i>	<i>260/230</i>
Del	<i>Délos</i>	MoBio Fecal	14.06.16	3,2	0,063	0,022	2,82	0,48
C34	<i>Chambly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	13,9	0,278	0,158	1,76	0,82
C35	<i>Chambly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	17,1	0,342	0,179	1,91	1,67
C36	<i>Chambly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	10,9	0,218	0,108	2,02	1,99
C47	<i>Chambly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	58,6	1,173	0,637	1,84	1,61
C49	<i>Chambly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	56,2	1,123	0,588	1,91	1,87
C51	<i>Chambly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	56,5	1,129	0,59	1,91	2,12
C53	<i>Chambly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	73,6	1,472	0,772	1,91	2,14
C55	<i>Chambly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	28,7	0,575	0,303	1,9	1,64
C57	<i>Chambly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	21,8	0,436	0,23	1,89	1,94
C59	<i>Chambly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	30	0,6	0,313	1,92	1,83
C61	<i>Chambly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	2,2	0,044	0,025	1,81	0,82
C61	<i>Chambly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	1,6	0,032	0,013	2,42	1,61
M20	<i>Marly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	6,3	0,126	0,064	1,96	0,72
M21	<i>Marly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	2,2	0,044	0,017	2,64	0,58
M22	<i>Marly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	1,5	0,03	0,011	2,9	0,13
M23	<i>Marly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	2,3	0,045	0,021	2,17	0,28
M24	<i>Marly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	2,5	0,05	0,02	2,52	0,54
Del (1)	<i>Délos</i>	Macherey-N. Sol	20.06.16	-8,2	-0,167	0,118	1,42	0,64
Del (2)	<i>Délos</i>	Macherey-N. Sol	20.06.16	0,1	0,002	-0,006	-0,37	-0,12
M20 (1)	<i>Marly</i>	Macherey-N. Sol	20.06.16	15,9	0,317	0,151	2,1	3,07
M20 (2)	<i>Marly</i>	Macherey-N. Sol	20.06.16	11,5	0,23	0,088	2,6	-3,61
M21 (1)	<i>Marly</i>	Macherey-N. Sol	20.06.16	10,9	0,219	0,1	2,2	2,74
M21 (2)	<i>Marly</i>	Macherey-N. Sol	20.06.16	-6,4	0,218	-0,09	1,43	0,55
DEL	<i>Délos</i>	MoBio Sol	05.09.16	0,2	0,004	-0,021	-0,2	0,68
M20	<i>Marly</i>	MoBio Sol	05.09.16	5,5	0,11	0,036	3,09	4
M21	<i>Marly</i>	MoBio Sol	05.09.16	-0,3	-0,005	-0,026	0,19	0,23
M22	<i>Marly</i>	MoBio Sol	05.09.16	-0,1	-0,002	-0,02	0,12	0,08
M23	<i>Marly</i>	MoBio Sol	05.09.16	-0,1	-0,003	0,023	0,13	-0,06
M24	<i>Marly</i>	MoBio Sol	05.09.16	1,2	0,023	-0,005	-4,95	0,26
M25	<i>Marly</i>	MoBio Sol	05.09.16	-0,9	-0,017	-0,031	0,55	0,39
C61	<i>Chambly</i>	MoBio Sol	06.09.16	17	0,34	0,179	0,19	1,78
M20	<i>Marly</i>	MoBio Sol	06.09.16	6,3	0,126	0,068	1,83	1,61
M21	<i>Marly</i>	MoBio Sol	06.09.16	3,1	0,061	0,037	1,63	0,88
M22	<i>Marly</i>	MoBio Sol	06.09.16	1,2	0,023	0,018	1,3	0,39
M23	<i>Marly</i>	MoBio Sol	06.09.16	0,8	0,015	0,008	1,86	0,29
M24	<i>Marly</i>	MoBio Sol	06.09.16	1,1	0,022	0,013	1,79	0,32
M25	<i>Marly</i>	MoBio Sol	06.09.16	1	0,021	0,01	2,12	0,24
M26	<i>Marly</i>	MoBio Fecal	13.09.16	22,9	0,458	0,267	1,71	0,9
M26(1)	<i>Marly</i>	MoBio Fecal	13.09.16	21,9	0,438	0,26	1,69	0,88
M27	<i>Marly</i>	MoBio Fecal	13.09.16	27,7	0,553	0,293	1,89	1,64
M27(1)	<i>Marly</i>	MoBio Fecal	13.09.16	29,7	0,595	0,322	1,85	1,53

Annexe 32 – Résultat des extractions ADN des échantillons anciens (© Céline Bon, Anaïs Augias).

<i>Ech.</i>	<i>Site</i>	<i>Kit extr.</i>	<i>Date</i>	<i>Conc. ADN (ng/µl)</i>	<i>A260</i>	<i>A280</i>	<i>260/280</i>	<i>260/230</i>
SER	<i>Sevron</i>	MoBio Fecal	17.06.16	6,7	0,134	0,076	1,76	0,68
CLR1	<i>Cernay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	11,4	0,228	0,119	1,92	0,35
CLR2	<i>Cernay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	14,6	0,292	0,147	1,99	0,87
CLR3	<i>Cernay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	3,2	0,063	0,04	1,59	0,33
CLR3B	<i>Cernay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	6,8	0,137	0,072	1,9	0,02
CLR4	<i>Cernay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	10,2	0,205	0,105	1,96	0,58
CLR5	<i>Cernay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	14,2	0,284	0,144	1,97	0,76
CLR6	<i>Cernay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	12,6	0,252	0,129	1,95	0,73
CLR7	<i>Cernay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	16,4	0,328	0,178	1,84	0,73
CLR8	<i>Cernay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	9,6	0,191	0,092	2,07	0,61
CLR9	<i>Cernay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	9,7	0,193	0,099	1,95	0,63
ISS1	<i>Warmeriville</i>	MoBio Fecal	17.06.16	45,3	0,906	0,507	1,79	1,14
ISS2	<i>Warmeriville</i>	MoBio Fecal	17.06.16	29,9	0,598	0,306	1,95	1,2
STE1	<i>Stenay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	1,9	0,039	0,018	2,14	0,42
STE2	<i>Stenay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	3,1	0,062	0,032	1,92	0,24
STE3	<i>Stenay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	1,8	0,037	0,017	2,2	0,38
STE5	<i>Stenay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	5,5	0,11	0,055	2,01	0,39
STE6	<i>Stenay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	21,9	0,438	0,235	1,86	0,78
STE8	<i>Stenay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	2,9	0,057	0,034	1,7	0,22
STE9	<i>Stenay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	28,4	0,568	0,312	1,82	0,73
BOS	<i>Beauce</i>	MoBio Fecal	17.06.16	6,5	0,131	0,07	1,86	0,3
SER	<i>Sevron</i>	Macherey-N. Sol	22.06.16	4,6	0,092	0,048	1,90	0,36
CLR3	<i>Cernay</i>	Macherey-N. Sol	22.06.16	13,4	0,269	0,146	1,84	0,39
STE1	<i>Stenay</i>	Macherey-N. Sol	22.06.16	3,1	0,062	0,035	1,77	0,29
STE2	<i>Stenay</i>	Macherey-N. Sol	22.06.16	7	0,141	0,073	1,92	0,29
STE3	<i>Stenay</i>	Macherey-N. Sol	22.06.16	10,3	0,207	0,115	1,80	0,38
BOS	<i>Beauce</i>	Macherey-N. Sol	22.06.16	22,8	0,457	0,254	1,80	0,61
SER	<i>Sevron</i>	MoBio Sol	08.09.16	5,4	0,023	0,057	1,88	1,07
CLR8	<i>Cernay</i>	MoBio Sol	08.09.16	17,9	0,108	0,205	1,74	1,61
CLR9	<i>Cernay</i>	MoBio Sol	08.09.16	8,8	0,358	0,098	1,78	1,74
STE1	<i>Stenay</i>	MoBio Sol	08.09.16	76,9	0,175	0,816	1,88	1,7
STE2	<i>Stenay</i>	MoBio Sol	08.09.16	16,8	1,538	0,189	1,79	1,34
STE4	<i>Stenay</i>	MoBio Sol	08.09.16	88,5	1,771	0,94	1,88	1,8
STE5	<i>Stenay</i>	MoBio Sol	08.09.16	15,6	0,312	0,164	1,9	2,4
STE7	<i>Stenay</i>	MoBio Sol	08.09.16	3,4	0,069	0,041	1,68	0,89
STE8	<i>Stenay</i>	MoBio Sol	08.09.16	8,8	0,176	0,094	1,88	4,61

Annexe 33 – Résultat des extractions ADN des échantillons modernes (©Laure Séguérel, Anaïs Augias).

<i>Blancs</i>	<i>Date</i>	<i>Conc. ADN (ng/μl)</i>	<i>A260</i>	<i>A280</i>	<i>260/280</i>	<i>260/230</i>
Ext. vide	14.06.16	0.5	0.009	0.003	3.22	0.36
C6	17.06.16	0.1	0.002	-0.011	-0.23	-0.41
Ext. vide	20.06.16	-7.4	-0.147	-0.099	1.49	0.66
C6	22.06.16	1.8	0.035	0.014	2.57	0.66
Ext. vide	05.09.16	-1.3	-0.025	-0.043	0.59	-2.28
Ext. vide	06.09.16	0.8	0.015	0.010	1.61	0.20
C6	08.09.16	1.1	0.023	0.004	5.32	-0.49
Ext. vide	13.09.16	1.1	0.022	0.016	1.35	7.23

Annexe 34 – Résultat des blancs des échantillons anciens et modernes
(© Céline Bon, Laure Ségurel, Anaïs Augias).

<i>Ech.</i>	<i>Site</i>	<i>Kit extr.</i>	<i>Date</i>	<i>Conc. ADN (no./l)</i>	<i>A260</i>	<i>A280</i>	<i>260/280</i>	<i>260/230</i>
C34	<i>Chambly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	13,9	0,278	0,158	1,76	0,82
C35	<i>Chambly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	17,1	0,342	0,179	1,91	1,67
C36	<i>Chambly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	10,9	0,218	0,108	2,02	1,99
C47	<i>Chambly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	58,6	1,173	0,637	1,84	1,61
C49	<i>Chambly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	56,2	1,123	0,588	1,91	1,87
C51	<i>Chambly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	56,5	1,129	0,59	1,91	2,12
C53	<i>Chambly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	73,6	1,472	0,772	1,91	2,14
C55	<i>Chambly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	28,7	0,575	0,303	1,9	1,64
C57	<i>Chambly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	21,8	0,436	0,23	1,89	1,94
C59	<i>Chambly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	30	0,6	0,313	1,92	1,83
C61	<i>Chambly</i>	MoBio Sol	06.09.16	17	0,34	0,179	0,19	1,78
M20	<i>Marly</i>	MoBio Fecal	14.06.16	6,3	0,126	0,064	1,96	0,72
M20 (1)	<i>Marly</i>	Macherey-N. Sol	20.06.16	15,9	0,317	0,151	2,1	3,07
M20	<i>Marly</i>	MoBio Sol	06.09.16	6,3	0,126	0,068	1,83	1,61
M21 (1)	<i>Marly</i>	Macherey-N. Sol	20.06.16	10,9	0,219	0,1	2,2	2,74
M26	<i>Marly</i>	MoBio Fecal	13.09.16	22,9	0,458	0,267	1,71	0,9
M27	<i>Marly</i>	MoBio Fecal	13.09.16	27,7	0,553	0,293	1,89	1,64
SER	<i>Sevron</i>	MoBio Fecal	17.06.16	6,7	0,134	0,076	1,76	0,68
SER	<i>Sevron</i>	MoBio Sol	08.09.16	5,4	0,023	0,057	1,88	1,07
CLR1	<i>Cernay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	11,4	0,228	0,119	1,92	0,35
CLR2	<i>Cernay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	14,6	0,292	0,147	1,99	0,87
CLR3	<i>Cernay</i>	Macherey-N. Sol	22.06.16	13,4	0,269	0,146	1,84	0,39
CLR3B	<i>Cernay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	6,8	0,137	0,072	1,9	0,02
CLR4	<i>Cernay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	10,2	0,205	0,105	1,96	0,58
CLR5	<i>Cernay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	14,2	0,284	0,144	1,97	0,76
CLR6	<i>Cernay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	12,6	0,252	0,129	1,95	0,73
CLR7	<i>Cernay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	16,4	0,328	0,178	1,84	0,73
CLR8	<i>Cernay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	9,6	0,191	0,092	2,07	0,61
CLR8	<i>Cernay</i>	MoBio Sol	08.09.16	17,9	0,108	0,205	1,74	1,61
CLR9	<i>Cernay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	9,7	0,193	0,099	1,95	0,63
CLR9	<i>Cernay</i>	MoBio Sol	08.09.16	8,8	0,358	0,098	1,78	1,74
ISS1	<i>Warmeriville</i>	MoBio Fecal	17.06.16	45,3	0,906	0,507	1,79	1,14
ISS2	<i>Warmeriville</i>	MoBio Fecal	17.06.16	29,9	0,598	0,306	1,95	1,2
STE1	<i>Stenay</i>	MoBio Sol	08.09.16	76,9	0,175	0,816	1,88	1,7
STE2	<i>Stenay</i>	Macherey-N. Sol	22.06.16	7	0,141	0,073	1,92	0,29
STE2	<i>Stenay</i>	MoBio Sol	08.09.16	16,8	1,538	0,189	1,79	1,34
STE3	<i>Stenay</i>	Macherey-N. Sol	22.06.16	10,3	0,207	0,115	1,80	0,38
STE4	<i>Stenay</i>	MoBio Sol	08.09.16	88,5	1,771	0,94	1,88	1,8
STE5	<i>Stenay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	5,5	0,11	0,055	2,01	0,39
STE5	<i>Stenay</i>	MoBio Sol	08.09.16	15,6	0,312	0,164	1,9	2,4
STE6	<i>Stenay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	21,9	0,438	0,235	1,86	0,78
STE8	<i>Stenay</i>	MoBio Sol	08.09.16	8,8	0,176	0,094	1,88	4,61
STE9	<i>Stenay</i>	MoBio Fecal	17.06.16	28,4	0,568	0,312	1,82	0,73
BOS	<i>Beauce</i>	MoBio Fecal	17.06.16	6,5	0,131	0,07	1,86	0,3
BOS	<i>Beauce</i>	Macherey-N. Sol	22.06.16	22,8	0,457	0,254	1,80	0,61

Annexe 35 - Échantillons anciens et modernes concernés par la PCR (© Céline Bon, Laure Ségurel, Anaïs Augias).

<i>Ech.</i>	<i>Vol. initial</i>	<i>Vol. eau</i>	<i>Vol. final</i>	<i>Conc. initiale</i>	<i>Conc. finale</i>
C34	5,8	14,2	20	13,9	4
C35	4,7	15,3	20	17,1	4
C36	7,3	12,7	20	10,9	4
C47	1,4	18,6	20	58,6	4
C49	1,4	18,6	20	56,2	4
C51	1,4	18,6	20	56,5	4
C53	1,1	18,9	20	73,6	4
C55	2,8	17,2	20	28,7	4
C57	3,7	16,3	20	21,8	4
C59	2,7	17,3	20	30	4
C61	4,7	15,3	20	17	4
M20	12,7	7,3	20	6,3	4
M20 (1)	5,0	15,0	20	15,9	4
M20	12,7	7,3	20	6,3	4
M21	7,3	12,7	20	10,9	4
M26	3,5	16,5	20	22,9	4
M27	2,9	17,1	20	27,7	4

	<i>Volume</i>	<i>Pour 17 éch.</i>	<i>Conc. Finale</i>
<i>Primer F 10 μM</i>	1,25	21,25	0,5 μM
<i>Primer R 10 μM</i>	1,25	21,25	0,5 μM
<i>Template DNA 4 ng/μl</i>	2,5	42,5	10 ng/25μl
<i>MasterMix</i>	12,5	212,5	1X
<i>Water</i>	7,5	127,5	-
<i>Total</i>	25	425	

<i>Initial denaturation</i>	98° C	30 sec	
<i>Denaturation</i>	98° C	5 sec	
<i>Hybridation</i>	54° C	20 sec	
<i>Elongation</i>	72° C	15 sec	25 cycles
<i>Final extension</i>	72° C	2 min	
<i>Hold</i>	20° C	30 sec	

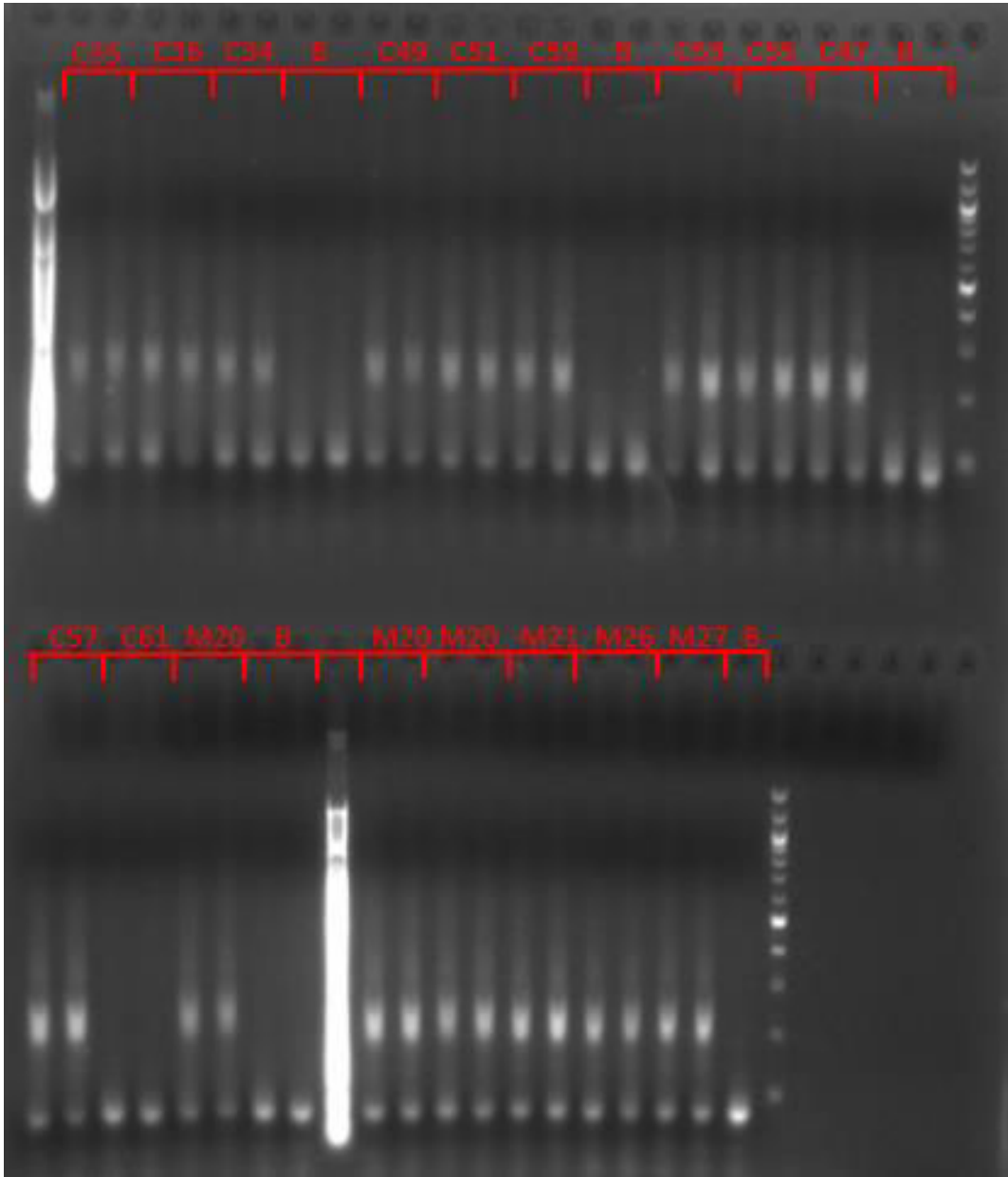
Annexe 36 - Protocole de PCR des échantillons anciens (© Céline Bon, Anaïs Augias).

<i>Ech.</i>	<i>Vol. initial</i>	<i>Vol. eau</i>	<i>Vol. final</i>	<i>Conc. initiale</i>	<i>Conc. finale</i>
SER	11,9	8,1	20	6,7	4
SER	14,8	5,2	20	5,4	4
CLR1	7,0	13,0	20	11,4	4
CLR2	5,5	14,5	20	14,6	4
CLR3	6,0	14,0	20	13,4	4
CLR3B	11,8	8,2	20	6,8	4
CLR4	7,8	12,2	20	10,2	4
CLR5	5,6	14,4	20	14,2	4
CLR6	6,3	13,7	20	12,6	4
CLR7	4,9	15,1	20	16,4	4
CLR8	8,3	11,7	20	9,6	4
CLR8	4,5	15,5	20	17,9	4
CLR9	8,2	11,8	20	9,7	4
CLR9	9,1	10,9	20	8,8	4
ISS1	1,8	18,2	20	45,3	4
ISS2	2,7	17,3	20	29,9	4
STE1	1,0	19,0	20	76,9	4
STE2	11,43	8,57	20	7	4
STE2	4,8	15,2	20	16,8	4
STE3	7,77	12,23	20	10,3	4
STE4	0,90	19,10	20	88,5	4
STE5	14,55	5,45	20	5,5	4
STE5	5,13	14,87	20	15,6	4
STE6	3,65	16,35	20	21,9	4
STE8	9,09	10,91	20	8,8	4
STE9	2,82	17,18	20	28,4	4
BOS	12,3	7,7	20	6,5	4
BOS	3,5	16,5	20	22,8	4

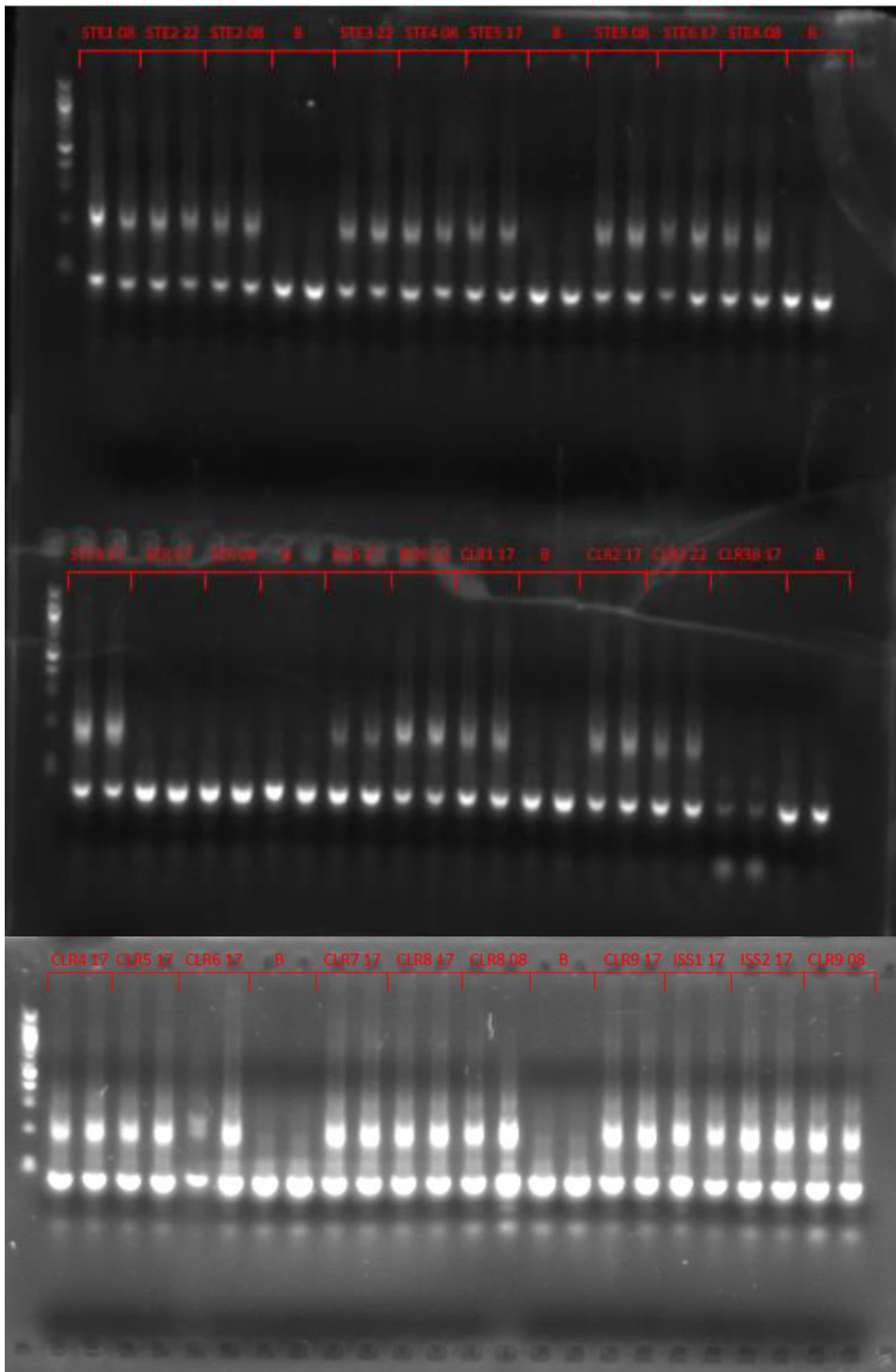
	<i>Volume</i>	<i>Pour 28</i> <i>écl.</i>	<i>Conc. Finale</i>
<i>Primer F 10 μM</i>	1,25	7,5	0,5 μM
<i>Primer R 10 μM</i>	1,25	7,5	0,5 μM
<i>Template DNA 4 ng/μl</i>	2,5	15	10 ng/25μl
<i>MasterMix</i>	12,5	75	1X
<i>Water</i>	7,5	45	-
<i>Total</i>	25	150	

<i>Initial denaturation</i>	98°C	30 sec	
<i>Denaturation</i>	98°C	5 sec	
<i>Hybridation</i>	54°C	20 sec	
<i>Elongation</i>	72°C	15 sec	25 cycles
<i>Final extension</i>	72°C	2 min	
<i>Hold</i>	20°C	30 sec	

Annexe 37 - Protocole de PCR des échantillons modernes (© Céline Bon, Anaïs Augias).



Annexe 38 - Résultat de la PCR des échantillons anciens (© Céline Bon, Anaïs Augias).



Annexe 39 - Résultat de la PCR des échantillons modernes (© Céline Bon, Anaïs Augias).