



HAL
open science

Contribution à la paléoparasitologie du bassin méditerranéen antique : hygiène, alimentation et environnement : une approche microscopique et paléogénétique

Kevin Roche

► To cite this version:

Kevin Roche. Contribution à la paléoparasitologie du bassin méditerranéen antique : hygiène, alimentation et environnement : une approche microscopique et paléogénétique. Archéologie et Préhistoire. Université Michel de Montaigne - Bordeaux III, 2022. Français. NNT : 2022BOR30033 . tel-04016777

HAL Id: tel-04016777

<https://theses.hal.science/tel-04016777>

Submitted on 6 Mar 2023

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 Bordeaux Montaigne

École Doctorale Montaigne Humanités (ED 480)

THÈSE DE DOCTORAT EN SCIENCES ARCHÉOLOGIQUES

**Contribution à la paléoparasitologie du bassin
méditerranéen antique**

*Hygiène, alimentation et environnement, une approche
microscopique et paléogénétique*

Présentée et soutenue publiquement le 23 septembre 2022 par

Kévin ROCHE

Sous la direction d'Alain Bouet et Olivier Dutour

Membres du jury

Laurence CAVALIER, Professeur, Université Bordeaux 3, présidente.

Alain BOUET, Professeur, Université Bordeaux 3, directeur.

Olivier DUTOUR, Professeur, École Pratique des Hautes Études, co-directeur.

Piers MITCHELL, Professeur, University of Cambridge, rapporteur.

Sophie BOUFFIER, Professeur, Université d'Aix Marseille, rapporteur.

Céline BON, MCF, Muséum National d'Histoire Naturelle, examinateur.

Matthieu LE BAILLY, MCF, HDR, Université de Bourgogne Franche-Comté, examinateur.

Sommaire

Remerciements.....	6
Introduction générale	9
PARTIE I : L'étude des parasites en contextes anciens : quels apports pour les questions archéologiques. Etat des connaissances concernant le bassin méditerranéen.....	16
Chapitre 1 : La parasitologie	17
Introduction	17
Qu'est-ce que le parasitisme ?.....	18
La diversité du parasitisme	18
Modalités du parasitisme	19
La notion de cycle parasitaire.....	19
Les voies de transmission.....	21
Conclusion.....	23
Chapitre 2 : Parasites dans le registre subfossile du bassin méditerranéen Holocène, un état de l'art.	24
Introduction	24
Les Helminthes.....	24
Les Protozoaires (eucaryotes unicellulaires)	27
Vecteurs, champignons, bactéries et particules virales	31
La diversité parasitaire observée dans le registre subfossile du bassin méditerranéen	32
Repères chronologiques du registre méditerranéen.....	36
Paléoparasitologie et biogéographie.....	41
Matériels et méthodes mis en œuvre dans le registre paléoparasitologique.....	42
Ce que cette revue ne dit pas	44
Conclusion.....	44
PARTIE II : Matériels et méthodes	46
Chapitre 1 : Les sites étudiés.....	47
Distribution chrono-géographique.....	47
Datation	47
Contextes archéologiques.....	48
Chapitre 2 : Les échantillons.....	60
Chapitre 3 : Méthodes	61
La paléoparasitologie.....	61
La paléogénétique.....	72
PARTIE III : Résultats et données paléontologiques, biologiques, épidémiologiques et pathologiques des helminthes observés.	105
Introduction.....	106
Chapitre 1 : Les Nématodes (Nemata)	107
Phylogénie et origine des Nématodes.....	107

Biologie des Nématodes	110
Chapitre 2 : Les Plathelminthes	123
Phylogénie et origine des Trématodes.....	123
Biologie des Trématodes	124
Chapitre 3 : Les Acanthocéphales	130
Phylogénie et origine des Acanthocéphales	130
Biologie des Acanthocéphales.....	131
PARTIE IV : Contribution de la paléoparasitologie à la connaissance des populations antiques méditerranéennes	135
Chapitre 1 : Hygiène, santé et salubrité : étude paléoparasitologique des latrines de Délos.	136
Introduction	136
Matériels et méthodes.....	137
Méthodes	138
Résultats	141
Discussion.....	144
Conclusion.....	158
Chapitre 2 : Fardeau parasitaire et alimentation : étude de la nécropole de la Galerie des Offices, Florence.	159
Introduction	159
Matériels et méthodes.....	163
Résultats	165
Discussion.....	167
Conclusion.....	173
Chapitre 3 : Environnement et pastoralisme dans le bassin versant d’Asi Gonia, Montagnes Blanche, Crète.	174
Introduction	174
Matériels et méthodes.....	175
Résultats	177
Discussion.....	183
Conclusion.....	190
Chapitre 4 : Les autres sites étudiés	192
Mare Stagno (France, Corse).....	192
La Biagiola (Italie, Latium)	194
Kardamaina (Grèce, Kos)	197
Labraunda (Turquie).....	200
Utique (Tunisie).....	200
Pollentia (Espagne, Majorque)	200
Baelo Claudia (Espagne)	202
Conclusion générale.....	205
Bibliographie.....	209
Auteurs anciens	210
Auteurs modernes.....	212
Index des figures	257

Index des tableaux.....	263
Index des abréviations.....	265
Communications scientifiques	266
Publications à comité de lecture	266
Chapitre d'ouvrage	266
Colloques.....	267
Annexes.....	269
Annexe 1: Vecteurs, champignons, bactéries et particules virales dans le bassin méditerranéen holocène.....	270
Arthropodes	270
Champignons.....	270
Bactéries	271
Virus	274
Annexe 2 : Analyses paléoparasitologiques des latrines de Délos.....	299
Annexe 3 : Étude de la nécropole de la galerie des offices.....	305
Annexe 4 : Étude paléoparasitologique de la tourbière d'Asi Gonia.....	308
Annexe 5 : Autres sites étudiés	309
Résultats sur le site de Mare Stagno (France, Corse).....	309
Résultats sur le site de La Biagiola (Italie, Latium)	310
Résultats sur le site de Kardamaina (Grèce, Kos)	311
Résultats sur le site de Labraunda (Turquie).....	311
Résultats sur le site d'Utique (Tunisie)	311
Résultats sur le site de Pollentia (Espagne, Majorque)	312
Résultats sur le site de Baelo Claudia (Espagne)	312

Remerciements

Dans l'ordre chronologique de nos rencontres, j'aimerais d'abord remercier mes directeurs et encadrants de thèse.

Olivier Dutour d'abord, qui dès 2011 a pris le temps, très gentiment, de répondre aux mails d'un étudiant de licence qui se demandait comment il pourrait étudier les traces fossiles des maladies ayant circulé dans le passé et à tenter une carrière dans ce thème de recherche. Quelques temps plus tard, je chargeais la voiture de ma mère de mes affaires afin de m'installer à Bordeaux pour y suivre le Master d'anthropologie biologique et rencontrer Olivier en personne, qui allait encadrer mon mémoire et me mettre en relation avec Alain Bouet et Matthieu Le Bailly.

Alain Bouet justement, qui m'a très chaleureusement accueilli au sein de son équipe à Délos. Je me suis immédiatement senti bien et intégré parmi « les déliens » emmenés chaque année par Alain sur l'Egée. Mettre le pied tant d'années de suite sur l'île sacrée d'Apollon était quelque chose d'inouï, contempler chaque jour les Cyclades depuis le sommet du mont Cynthe était époustouflant.

Matthieu Le Bailly enfin, qui m'a accueilli dans son équipe au laboratoire Chrono-environnement de Besançon et à qui je dois tant. M'avoir confié la poursuite du projet Paléoparasitologie et Paléogénétique ainsi que l'enseignement de Master en paléogénétique et ADN environnemental à l'université de Franche-Comté ont probablement été les entreprises les plus intellectuellement excitantes de ma vie récente.

Je remercie également les membres de mon jury, qui ont aimablement accepté de lire et évaluer mon travail.

Je souhaite également remercier mes collègues de McMaster University, à commencer par Hendrik Poinar, mais également Tyler Murchie et Jessica Hider, pour leur extrême gentillesse et incroyable patience. Ce séjour hivernal en Ontario, des carottages sur le glacial Crawford Lake à la chaleur du labo en surblouse, sont des ces expériences tellement incroyables que je tends à y repenser à la troisième personne, comme si je ne les avais pas vraiment vécues.

Je veux également remercier mes collègues de l'UMR Chrono-environnement, pour leur gentillesse et leur pédagogie, Nicolas Capelli et Isabelle Jouffroy-Bapicot, qui ont très amplement participé à étoffer ce manuscrit.

Je tiens également à remercier les archéologues et leurs équipes qui m'ont convié sur leurs sites afin de collecter des échantillons : Sir Colin Renfrew, Miguel Ángel Cau Ontiveros, Sophia Kalopissi-Verti, Florence Gaignerot-Driessen, Laurent Brassous, Laetitia Borau, Fernando Prados Martinez, Gaël Brkojewitsch, Luca Mario Nejrotti.

Je remercie également mes collègues de Chrono, Céline Maicher et Benjamin Dufour pour nos nombreuses discussions enrichissantes.

Il me faut également remercier mes meilleurs amis, Marie Floquet et Stanislas Courrieu, sans qui cette thèse n'aurait jamais vu le jour.

Enfin, je remercie mes parents et ma famille, sans le soutien ni les encouragements de qui depuis la tendre enfance, un tel projet n'aurait jamais germé, et à qui je dédie ce modeste travail.

« Les recherches scientifiques sont très intéressantes, mais M. Pasteur avait parfaitement raison lorsqu'il disait qu'à moins d'être un génie, il faut être riche pour travailler dans un laboratoire sous peine de traîner une existence misérable, même avec une certaine renommée scientifique...[...] Je vois que j'aboutirai fatalement à l'exploration scientifique ; j'ai trop de goût pour cela et tu dois te souvenir que cela a toujours été mon rêve bien intime de suivre de loin les traces de Livingstone. »

Correspondance d'Alexandre Yersin à sa mère, 1881.

Introduction générale

La recherche sur les maladies ayant eu cours dans le passé remonte aux précurseurs de la paléopathologie, comme Esper, Cuvier et Walther. Ces naturalistes des 18^{ème} et 19^{ème} siècles s'intéressaient alors essentiellement aux pathologies ostéo-articulaires observées sur des spécimens paléontologiques de la mégafaune éteinte. Au 19^{ème} siècle, des anthropologues et médecins tels que Virchow ou Broca, étendirent cette approche scientifiquement fondée à l'étude de restes spécifiquement humains (Grmek, 1991 ; Dutour, 2011).

Actuellement, cette approche concerne surtout des restes animaux, mais elle englobe *de facto* l'étude des manifestations pathologiques de restes végétaux (Labandeira et Prevec, 2014). Cependant, ce n'est qu'après une large reconnaissance de la théorie des germes qu'un ancien collaborateur de Louis Pasteur, Marc Armand Ruffer, a réalisé la première observation directe d'un agent pathogène provenant d'échantillons anciens. Cette observation avait consisté en la détection d'œufs microscopiques du vers Trématode *Schistosoma haematobium* dans les tissus de différentes momies égyptiennes du 13^{ème} siècle avant notre ère (Ruffer, 1910). Ainsi naissait la discipline paléoparasitologique.

Cette thèse en sciences archéologiques appartient au champ initié voilà plus d'un siècle par Ruffer, en s'intéressant à l'histoire des parasites eucaryotes des humains et des autres animaux par le biais de l'observation de leurs restes préservés dans des échantillons anciens. Si la base du travail repose toujours, comme au temps de Ruffer, sur la reconnaissance d'œufs microscopiques d'helminthes gastrointestinaux, elle bénéficie cependant des avancées plus récentes des techniques appliquées aux matériaux archéologiques, notamment l'immunologie et la paléogénétique, autorisant entre autres plus aisément la recherche de protozoaires.

Dans le cours de ce travail, nous embrassons la posture de Marcos Martinon-Torres et David J. Killick (2016) concernant la situation épistémologique de ce type d'approches vis-à-vis de la théorie archéologique, renonçant à toute différenciation de nature entre archéologie, archéologie scientifique, et sciences archéologiques. Bien au contraire, nous pensons qu'il ne peut y avoir d'archéologie qui ne soit pas scientifiquement fondée dans ses principes, qui refuse, ignore ou minore l'apport des sciences naturelles, et que ces dernières ne participent pas à l'élaboration et à la testabilité des théories archéologiques. Nous pourrions pousser le raisonnement en reprenant à notre compte les mots de Jean Jacques Hatt, précurseur en la matière, la considérant comme une « science de la nature, lorsqu'elle étudie l'homme dans son milieu extérieur, et dans ses rapports avec les animaux et les plantes » (il parlait alors spécifiquement de la discipline préhistorique), et revendiquons un pas supplémentaire : celui d'assumer pleinement l'apport de ce type d'approche aux sciences de la vie, notamment

l'écologie (en particulier l'écologie de l'anthropisation, en reprenant Stéphanie Thiébault, 2010, citant par ailleurs J.-J. Hatt). Ces précisions ne nous semblent pas superflues au regard de l'histoire récente des postures relativistes ayant irrigué tout particulièrement le domaine de l'archéologie environnementale encore au tournant des années 90-2000.

L'archéologie environnementale, c'est précisément l'emboîtement disciplinaire suivant dans lequel nous pouvons intégrer ce travail. Celle-ci considère l'espèce humaine comme partie intégrante du monde naturel, parmi d'autres animaux dans les écosystèmes (Renfrew et Bahn, 2008). Les objectifs de la discipline sont multiples et peuvent trouver des variations ou préférences locales. En cela elle nous semble quasiment indiscernable de l'histoire environnementale dans ses problématiques et dans la diversité des sources mobilisées. Il est ainsi possible, à la suite de J. Donald Hughes de la résumer à la recherche sur l'impact des sociétés humaines sur l'environnement au cours du temps ainsi qu'à la réciproque (Hughes, 2016). Il ne s'agit cependant là que du thème principal de la discipline, qui n'est aucunement dominant ou exclusif, et ce serait une erreur de ne pas penser également à une histoire sociale de l'environnement telle que présentée entre autres par Jean-Baptiste Fressoz et ses collègues (2014). Le climat et les maladies infectieuses ont très tôt été des acteurs historiques reconnus par la discipline, et ont même, pour ces dernières, donné lieu à des textes fondateurs pour celle-ci. Pensons aux contributions de Hans Zinsser en 1935, *Rats, Lice and History* ; d'Alfred Crosby en 1972, *The Columbian Exchange* ; de William H. McNeill en 1977, *Plagues and Peoples* ; de Mirko D. Grmek en 1983, *Les maladies à l'aube de la civilisation occidentale*.

C'est dans le contexte méditerranéen antique que nous avons appliqué ces problématiques et recherché les biorestes de ces parasites. Là encore, ce modeste travail bénéficie des voies ouvertes par d'autres. On ne peut ignorer en effet les références systématiquement communes des historiens, archéologues de l'environnement et paléoécologues comme préceuses ou fondatrices de leurs disciplines et portant sur l'espace méditerranéen, du *Man and Nature* en 1864 de George Perkins Marsh, à l'Ecole des Annales incluant évidemment *La Méditerranée* de Fernand Braudel publiée en 1977. Bien entendu ces références communes ne sont pas exhaustives si l'on s'intéresse à la zone méditerranéenne, et l'on peut aussi citer les travaux de Alfred T. Grove et Oliver Rackham en 2001, *The nature of mediterranean Europe: an ecological history* ; de John R. McNeill en 2004, *The mountains of the mediterranean world : an environmental history*, ou de J. Donald Hughes en 2005, *The Mediterranean: an environmental history*. Le problème de la définition d'une région est probablement de ceux dont on ne se débarrassera jamais, pour reprendre les termes de Terry O'Connor et John G. Evans en introduction de leur *Environmental Archaeology* (2005). Pour eux comme pour nous, l'écologie et la région seront des thèmes clefs de notre approche, puisque, reprenant la formulation de Hughes à ce propos « a region, more aptly than a nation, can be defined in ecological terms » (2016). Il nous faudra pour cela accepter la dimension dramatiquement parcellaire du registre archéologique et paléoenvironnemental, et compter sur quelques études de cas bien documentées qui permettront à l'avenir, par leur accumulation, de meilleures approximations. La ville grecque insulaire de Délos dans les Cyclades est définitivement de ces sites, extensivement fouillée et ayant livré la seule étude exhaustive à ce jour de l'ensemble des latrines connues d'une cité d'époque hellénistique, contexte précieux s'il en est, pour la détection de pathogènes gastrointestinaux ayant circulé par le passé au sein d'une population urbaine de méditerranée.

Ce serait effectivement une erreur de ne considérer le contexte environnemental que comme un cadre de géographie physique, un relief façonné tout au long des temps géologiques. De fait, l'environnement urbain et ses spécificités, notamment en termes de santé publique est largement reconnu comme un objet digne d'intérêt par les historiens de l'environnement (on peut penser aux travaux de Joel A. Tarr en 1996, *The Search for the Ultimate Sink: Urban Pollution in Historical Perspective*, ou de Martin Melosi en 2004 et 2008, *Garbage In The Cities: Refuse, Reform, And The Environment*, et *The Sanitary City: Environmental Services in Urban America from Colonial Times to the Present*). L'enjeu des conséquences de l'urbanisation sur l'environnement qui en dépend ainsi que sur la santé de ceux qui la vivent n'ont pas échappé aux archéologues de l'environnement non plus, qui ne séparent pas environnement naturel et environnement anthropique, ainsi qu'en témoigne Dena Dincauze: « the traditional contrast between natural and social environment is no longer analytically acceptable, the two are mutually dependent and inseparable » (2000), ou Stéphanie Thiébault qui interroge : « qu'est-ce qu'un vestige naturel ? » (2010). Plus récemment, les approches bioarchéologiques de l'environnement urbain ont pleinement intégré la paléoparasitologie, comme en témoigne l'ouvrage collectif *The Bioarchaology of Urbanization*, édité en 2020 par Tracy K. Betsinger et Sharon N. DeWitte. Là encore, à la suite de O'Connor et Evans, il faut « épouser l'approche écologique, [...] l'idée de construction de niche » (2005).

Cette idée de construction de niche est particulièrement adaptée à l'objet qui est le nôtre dans ce travail, à savoir les organismes parasites, puisqu'il se superpose pleinement à celui de patho-écologie, développé en 1974 par Karl Reinhard (Reinhard, 2008), paléoparasitologue américain, et ceci indépendamment de celui de pathocénose, développé en 1969 par Mirko Grmek, notamment dans le cadre du monde grec ancien. Le terme, qui entend l'étude des déterminants environnementaux des pathologies de manière rétrospective est basé sur le principe même de niche écologique, le nidus-concept développé par Pavlovsky en 1966 et qui définit l'espace écologique d'un parasite donné (eucaryote ou non) dans des zones d'interaction spécifiques. Un nidus est en somme un foyer d'infection, comme une ville, un quartier, un réseau d'égouts, ou une paille infestée, et il est possible d'approximer leur reconstruction *a posteriori* en contexte archéologique ou paléoenvironnemental.

Ces cadrages conceptuels ne demandent donc plus qu'à trouver leur contexte historique et culturel d'application, ici celui d'une large antiquité gréco-romaine. En dépit des textes fondateurs précédemment cités, dont ceux de Mirko Grmek, il semble que les considérations environnementales aient eu plus de difficulté à percoler dans la communauté des antiquisants qu'ailleurs. Dans son *What is environmental history*, J. Donald Hughes évoque à ce propos le « conservatisme » de la communauté (2016), alors que tout aussi récemment, Benoît Rossignol évoque l'hostilité rencontrée par une telle approche dans ce milieu (Harper, 2019). Fort heureusement, d'importantes contributions au domaine se sont multipliées ces dernières années. On peut à ce propos évoquer les travaux de Karl W. Butzer en 2005, *Environmental history in the Mediterranean world: cross-disciplinary investigation of cause-and-effect for degradation and soil erosion* ; de J. Donald Hughes en 2014, *Environmental problems of the Greeks and Romans* ; de Kyle Harper en 2019, *Comment l'empire romain s'est effondré* ; ou des ouvrages collectifs comme *Environment and Society in the Long Late Antiquity* en 2019, édité par Adam Izdebski et Michael Mulryan. Au delà de toute éventuelle hostilité, il est encourageant de constater que ces approches, loin d'être ignorées, sont dorénavant prises tout

à fait au sérieux et passées au crible d'une saine lecture critique (Haldon *et al.*, 2018a ; 2018b ; 2018c).

Nous avons donc ici une approche, résolument naturaliste ; nous avons un marqueur, les parasites gastrointestinaux des humains et des autres animaux ; nous avons une technique d'observation, la microscopie et la biologie moléculaire ; et nous avons un contexte, celui du bassin méditerranéen ancien. Mais à nous intéresser aux organismes infectieux ayant circulé dans le passé, à leur diversité, aux causes et aux conséquences de leur présence dans ces communautés et environnements anciens, ne sommes-nous pas simplement en plein présentisme ? Cette question prend une saveur particulière alors que le présent manuscrit a été rédigé lors du premier confinement en France dû à l'épidémie de COVID-19. Il convient d'abord de souligner à la suite de J. Donald Hughes (2014) que cette objection semble *de facto* interdire toute investigation historique visant à comprendre les problèmes présents, qui bien souvent, sont pourtant les produits de processus historiques, notamment en matière environnementale. Ensuite, les problèmes environnementaux et leurs conséquences, notamment en termes de santé, étaient loin d'être inconnus durant l'Antiquité, l'exemple le plus fameux de cela étant certainement Platon décrivant dans le *Critias* les conséquences de la déforestation et la nécessité de préserver l'environnement afin de les éviter (PLATON, *Critias*, 111). Les lamentations de Juvénal à propos des pots de chambres vidés par les fenêtres dans les rues de Rome (JUVENAL, *Satires*, III, 6-8), la mise en place des superviseurs des rives du Tibre et des Latrines par Auguste et Trajan, les nombreux temples dédiés à la déesse Febris mais aussi évidemment les écrits médicaux au premier chef des quels le corpus hippocratique, sont autant de preuves de la conscience aiguë des populations du monde gréco-romain, urbaines en particulier, du fardeau des problèmes de salubrité publique et des maladies infectieuses (Hughes, 2014).

Si l'historiographie (tout comme la recherche médicale au demeurant), a eu tendance à faire la part belle aux grandes épidémies de l'histoire, le poids des maladies endémiques sur les sociétés anciennes a globalement été ignoré, et le demeure. Il est pourtant hautement probable que ce fardeau latent ait été bien plus couteux en termes de vies humaines, de bien-être et d'économie, que les épidémies dont nous sont parvenues les chroniques. Il est difficile de mettre cela sur le compte de l'absence de preuves directes de leur distribution en observant les publications anciennes ou plus récentes spéculant sur l'origine étiologique de telle ou telle épidémie historique en prenant pour fiables des raisonnements ne manquant certes pas d'élégance interne. L'apport de preuves empiriques a pourtant contribué à renverser quelques scénarios jusque-là tenus pour évidents (pensons à l'origine de la tuberculose).

Mais loin des spéculations maximalistes sur les conséquences macro-historiques de la diffusion supposée de tel ou tel agent pathogène dans le passé, ce manuscrit entend avant tout dresser l'état de l'art des données directes concernant les infections parasitaires effectivement détectées en Méditerranée ancienne, et le cas échéant, des apports potentiels de telles détections à notre connaissance des sociétés et environnements anciens.

Plus précisément, ce sont trois thèmes principaux qui retiendront ici notre attention. Il s'agira d'abord de l'hygiène, de la santé et de la salubrité dans les communautés urbaines de Méditerranée ancienne. Ces conditions de vie peuvent parfois faire l'objet de débats,

notamment chez les historiens de l'antiquité urbaine, en particulier romaine, quant à savoir la réalité de l'insalubrité expérimentée par les populations anciennes. Est-il possible d'apporter un éclairage fiable à ces questions à l'aune des données paléoparasitologiques, c'est-à-dire du fardeau parasitaire effectivement observé sur ce type de sites et susceptible d'être directement conditionné par un environnement insalubre. Nous explorerons ce thème tout particulièrement sur le site de Délos, dans les Cyclades.

Il s'agira ensuite d'un thème plus indirectement abordable par la paléoparasitologie : celui de l'alimentation. Nous savons effectivement qu'un certain nombre de parasites exploitent, pour se disséminer, les réseaux trophiques. Il est alors possible, lorsque de tels parasites sont détectés en contexte archéologique, d'approximer certains comportements alimentaires ayant pu exposer les individus chez qui ont été détectés les dits parasites. Ce thème, en particulier, fera l'objet de discussions dans le cadre de notre analyse des individus de la nécropole de la Galerie des Offices à Florence.

Enfin, il s'agira du thème de l'environnement, et plus particulièrement de l'intégration de la paléoparasitologie aux reconstructions paléoécologiques. La paléoparasitologie, du moins en Europe et à plus forte raison en Méditerranée, est le plus souvent appliquée sur des sites archéologiques bien identifiés. Mais peut-elle apporter des informations complémentaires en contexte « hors-site », en dehors de tout site archéologique et de structures faciles à reconnaître et propices à l'accumulation de restes parasitaires, telles des latrines ? Le cas échéant, ces données, au-delà de renseigner sur l'environnement ancien, sont-elles susceptibles de documenter des signes d'activité humaine tel que le pastoralisme ? Ces questions trouveront un écho sur le site de la tourbière de montagne d'Asi Gonia en Crète.

A la poursuite de ces trois thèmes, les sites de Délos, de Florence et d'Asi Gonia feront l'objet de chapitres dédiés dans la suite de ce manuscrit, qui en représenteront véritablement le cœur. Parallèlement, plusieurs questions d'ordre méthodologique seront explorées au travers de ces trois chapitres, à commencer par le gain potentiel de la stratégie d'échantillonnage exhaustive, notamment à l'échelle de l'emprise d'une ville hellénistique presque entièrement fouillée. Cette stratégie est-elle plus informative que redondante ? Il nous faudra ici comparer les résultats obtenus, notamment à Délos, avec ceux de la littérature publiée. Ensuite, l'approche paléogénétique parallèlement à l'approche microscopique, apporte-t-elle un gain informatif quant au fardeau parasitaire détecté ? Agit-elle au-delà de la simple confirmation diagnostique ? Les sites de Délos et de Florence, sur les quels une telle approche a pu être tentée, apporteront certains éclairages en la matière. Enfin, les méthodes de recherche standards de la discipline paléoparasitologique sont-elles viables en contexte « hors-site ». Effectivement, les contextes tels celui d'Asi Gonia ont de longue date été explorés par les paléoécologues, à la recherche de grains de pollens, de spores de champignons, de diatomées, et bien d'autres restes d'une échelle comparable à celle des œufs de parasites observés sous microscope. Ces recherches bénéficient-elles dès lors de l'adjonction d'une approche paléoparasitologique dans le cadre d'analyses multi-indicateurs ?

Ce manuscrit s'organisera donc en plusieurs parties. La partie I dresse une présentation rapide des concepts et de l'historique de la discipline. Cette partie se termine par une revue des données actuellement connues concernant la distribution parasitaire en méditerranée

ancienne, et discute la fiabilité de ce corpus. La partie II présente les matériels et méthodes employés pour les études de cas originales que l'on trouvera dans la suite du manuscrit. Cette partie comporte 3 chapitres, portant respectivement sur les sites étudiés (distribution, chronologie, contexte archéologique), sur la nature des échantillons collectés sur les sites précédemment mentionnés, et sur les méthodes employées pour leur analyse. La partie III présente succinctement les résultats bruts obtenus pour chaque classe d'helminthes détectée sur les sites étudiés dans ce corpus de thèse et les données disponibles pour ces parasites. La partie IV discute des apports respectifs de ces différents sites archéologiques aux thèmes abordés au cours de ce travail. Il s'agit d'abord au chapitre 1, de l'exploration exhaustive du fardeau parasitaire détectable à l'échelle d'une cité hellénistique, à savoir Délos dans les Cyclades. Passant de l'échelle collective à l'échelle individuelle, le chapitre 2 de la partie IV s'est attaché à détecter les parasites infestant spécifiquement les individus des sépultures tardo-antiques de la Galerie des Offices à Florence. Le chapitre 3 de la partie IV s'intéresse au contexte environnemental « hors-site », par l'étude des parasites présents dans la tourbière de montagne d'Asi Gonia en Crète depuis l'époque romaine, montrant la contribution de la paléoparasitologie aux reconstructions paléoécologiques en lien avec l'anthropisation du territoire. Enfin, le chapitre 4 de la partie IV fait état des observations plus marginales faites sur le reste de notre corpus.

Les chapitres originaux de ce manuscrit ont tous fait l'objet de publications dans des revues internationales indexées à comité de lecture ou des chapitres d'ouvrages, dans les domaines des sciences archéologiques, de la vie, et de l'environnement, ou sont en cours de publication. Ces publications sont mentionnées en tête des chapitres concernés.

PARTIE I : L'étude des parasites en contextes anciens : quels apports pour les questions archéologiques. Etat des connaissances concernant le bassin méditerranéen

Chapitre 1 : La parasitologie

Ce chapitre a partiellement fait l'objet d'une publication scientifique :

-Le Bailly, M., Maicher, C., **Roche, K.**, Dufour, B., **2021**. Accessing ancient population lifeway by the study of their gastrointestinal parasites: paleoparasitology. Appl. Sci 11(11), 4868. Doi: 10.3390/app11114868.

Introduction

Les organismes étudiés au cours de ce travail de thèse ont certes été recherchés en contextes archéologiques et paléo-environnementaux, ils n'en demeurent pas moins des espèces modernes (par opposition à des espèces éteintes) à l'écologie et aux effets pathogènes connus. Les interprétations qui pourront être tirées de la détection de leurs microfossiles ou fragments d'ADN ancien seront donc directement dépendantes des connaissances actuelles concernant ces parasites. Il convient dès lors dans un premier temps de présenter succinctement les notions élémentaires de la parasitologie qui conditionneront plus tard les interprétations proposées concernant la détection de parasites en contextes anciens.

En contexte archéologique en particulier, ces interprétations pourront recouvrir un certain nombre de problématiques. Les premières et les plus évidentes concerneront l'identification d'agents causaux de maladies endémiques parasitaires dans les populations anciennes. Les connaissances actuelles que nous avons de ces agents et des maladies éventuellement provoquées chez leurs hôtes humains et non-humains, pourront évidemment nous renseigner sur l'état sanitaire et pathologique des populations étudiées. Lorsque ces parasites se trouvent être inféodés à une espèce hôte particulière, ou à un spectre d'espèces hôtes, il sera également possible d'argumenter sur la présence de ces espèces dans le contexte archéologique de prélèvement, et ceci indépendamment de la détection de traces directes des dits hôtes (comme des ossements par exemple). Les connaissances actuelles à propos de ces organismes parasitaires concernent également leur cycle de développement, leurs voies de transmission, et les conditions environnementales nécessaires à leur maintien en un lieu donné. Ces éléments sont logiquement susceptibles d'éclairer le contexte archéologique de prélèvement. Les parasites peuvent avoir été accumulés dans certaines zones, ou certaines structures archéologiques, révélant alors potentiellement des modalités de gestion des déchets organiques (s'il s'agit de parasites gastrointestinaux par exemple), ou une certaine partition des activités (on peut penser à des zones de stabulation). Certains parasites peuvent exploiter des réseaux trophiques pour se disséminer, et il est dès lors possible de discuter des comportements alimentaires ayant éventuellement conduit à leur détection chez une population ancienne. On peut ainsi penser à des parasites notamment transmis par la consommation de poisson, ou de viande. De surcoût, il n'est aucunement nécessaire pour un parasite d'être la cause d'une véritable infestation et de conséquences pathologiques, pour être indicateur de tels comportements. Alors que nombre de parasites se révèlent être très cosmopolites, d'autres pourront être inféodés à des niches écologiques ou régions particulières. Les parasites étant transportés par leurs hôtes, humains ou non, il sera alors tentant de discuter des éventuelles migrations ayant donné lieu à ces détections. En somme, la dissémination des infestations parasitaires étant fortement conditionnée par les activités humaines, il sera possible non seulement de reconstruire l'histoire naturelle des parasites telle que « guidée » par leurs hôtes humains (sans aucune intentionalité), mais également de restituer partiellement les activités et comportements ayant contribué à cette dissémination,

voire d'évaluer l'impact des activités des populations anciennes sur leur propre fardeau parasitaire et leur propre santé.

Qu'est-ce que le parasitisme ?

Le parasitisme est une notion floue dont il est peu aisé de donner une définition parfaitement consensuelle. Il est possible cependant de s'accorder sur une définition minimale et opérationnelle des parasites comme étant des organismes passant au moins une partie de leur vie sur ou à l'intérieur d'un autre organisme, leur hôte, hôte duquel ils dépendent et tirent un bénéfice à son détriment.

Cette conception associe celle de Leuckart qui, en 1879, a défini les parasites comme étant des organismes trouvant leur habitat et leur nourriture dans d'autres organismes, et celle de Brumpt qui, en 1913, a défini les parasites comme étant tous les êtres vivants menant leur existence aux dépens d'un autre organisme durant au moins une partie de leur vie.

La diversité du parasitisme

La définition de la vie parasitaire est donc fondamentalement écologique, en cela qu'elle définit une modalité de relation durable entre plusieurs organismes dans un environnement donné. Ainsi, le parasitisme a pu apparaître à de nombreuses reprises au cours de l'évolution et est très largement distribué dans l'arbre phylogénétique du vivant. Il est possible d'y observer différentes situations, avec des embranchements au sein desquels le parasitisme n'a semble-t-il jamais émergé, c'est le cas des échinodermes et des mammifères ; ou *a contrario* des embranchements entièrement constitués d'espèces parasites, comme les Apicomplexés auxquels l'agent de la malaria appartient, ou les Acanthocéphales dont il sera question dans ce manuscrit. Dans la majorité des cas cependant, les groupes phylogénétiques comprennent à la fois des espèces au mode de vie libre, et des espèces parasites. Là encore la répartition des modes de vie peut y varier, avec des groupes comprenant une majorité d'espèces libres et une minorité d'espèces parasites, comme chez les cnidaires, et des situations inverses, comme chez les plathelminthes (Combes *et al.*, 2018).

Cependant, même les groupes d'organismes n'ayant pas développé de mode de vie parasitaire, comme les primates, sont concernés par le parasitisme en tant qu'hôte. Ainsi, le parasitisme est un concept majeur du monde vivant, et le mode de vie parasitaire n'est pas une chose rare. En 1980, Price estimait à 70 % le nombre d'espèces parasites parmi toutes les espèces vivantes. En 1988, Tim et Clauson ont estimé ce chiffre à 50 %. En suivant en effet le raisonnement de Poulin et Morand (2000), si chaque espèce d'hôte héberge au moins une espèce parasite qui lui soit spécifique, alors on devrait effectivement s'attendre à ce que 50 % des espèces existantes pour le moins soient des parasites. L'importance et l'ubiquité du parasitisme restent de surcroît majeures même en ne prenant pas en compte les groupes principaux de parasites obligatoires comme les virus ou les rickettsies (Roberts et Janovy, 2009). Ainsi selon De Meeûs et Renaud (2002), 30 % des 2 millions d'espèces eucaryotes actuellement connues seraient des parasites. Le parasitisme le mieux connu est sans surprise celui touchant l'espèce humaine, dont on sait qu'elle peut communément être infestée par 179 espèces de parasites eucaryotes, dont 35 lui sont spécifiques (De Meeûs *et al.*, 2007). Un tel nombre ne laisse que peu de doute sur l'importance sous-estimée du parasitisme réel, importance assurément renforcée par l'ubiquité de l'hyper-parasitisme, à savoir l'infestation par des espèces parasites d'organismes eux-mêmes parasites (Lefèvre *et al.*, 2010).

Modalités du parasitisme

Le mode de vie parasitaire est une adaptation à la vie dans un milieu particulier, qui est un hôte, ou à la surface de celui-ci. Ce milieu biotique présente certains caractères comme pourraient en présenter des milieux physiques comme le milieu marin ou le milieu terrestre. Claude Combes et collègues définissent ainsi l'adaptation à ce milieu comme répondant à quatre caractères essentiels dont découleront différentes modalités de la vie parasitaire abordés plus loin (Combes *et al.*, 2018) :

- Les hôtes représentent un milieu spatialement discontinu, à l'image d'îles isolées les unes des autres sur lesquelles vivent différentes populations de parasites.
- Les hôtes représentent également un milieu temporellement discontinu, puisque ces hôtes sont des organismes mortels à la durée de vie limitée.
- Les hôtes représentent un milieu hostile, principalement par le biais de leur système immunitaire, duquel les parasites doivent se défendre.
- Les hôtes évoluent et leurs caractères phénotypiques changent ; ils peuvent ainsi présenter des adaptations comportementales ou immunitaires nuisibles à la survie du parasite ou au contraire favorables à son établissement.

La discontinuité spatiale et temporelle du milieu implique donc que les parasites disposent d'une certaine capacité de dispersion pour se transmettre d'hôte à hôte. Cette capacité est assurée chez la plupart des parasites par des stades de développement spécialisés dans cette tâche, qui consistent presque toujours en des formes de dissémination résistantes au milieu extérieur comme des œufs chez les helminthes ou des kystes chez les protozoaires. Certains modes de transmission importants échappent néanmoins à cette tendance générale, comme lors de la transmission par vection dont il sera question *infra*.

La notion de cycle parasitaire

Ces caractères du milieu discontinu conditionnent donc l'existence de cycles parasitaires assurant aux espèces parasites leur transmission et leur descendance. Une grande diversité de cycles, parfois très compliqués, a pu évoluer au regard de la grande diversité phylogénétique des parasites et de leurs hôtes, mais il est possible de les regrouper en quelques grands ensembles, ainsi que les voies de transmissions impliquées.

Le cycle à un hôte (monoxène)

Comme son nom l'indique, le cycle parasitaire à un hôte, dit aussi cycle monoxène, ou cycle direct, n'implique qu'un seul hôte dans le développement du parasite. Ce type de cycle est particulièrement répandu chez les procaryotes mais également chez les parasites eucaryotes dont les métazoaires. C'est le cas du nématode *A. lumbricoides* dont il sera question dans ce manuscrit. Ce vers parasite qui vit à l'état adulte dans l'intestin grêle d'un humain, pond des œufs microscopiques chitineux dans la lumière intestinale de cet hôte qui rejoindront le milieu extérieur lors de la défécation. Après plusieurs semaines passées dans le sol et le développement du juvénile qu'il contient, l'œuf devenu infestant pourra être accidentellement ingéré par un nouvel hôte humain, au sein duquel se poursuivra le développement du parasite jusqu'à l'état adulte durant lequel a lieu la reproduction sexuée et la ponte de nouveaux œufs.

Dans ce cycle de développement, un seul hôte est nécessaire pour assurer le développement du parasite depuis sa forme de dissémination.

Le cycle à deux hôtes (dixène)

Le cycle à deux hôtes implique la présence d'un hôte intermédiaire et d'un hôte définitif. L'hôte définitif est celui au sein duquel se déroule la reproduction sexuée et d'où sera émise la forme de dissémination du parasite. Ce type de cycle est particulièrement rencontré chez les parasites exploitant la chaîne alimentaire pour leur transmission. Les ténias du bœuf ou du porc (*T. saginata* et *T. solium*) par exemple peuvent l'illustrer : les embryophores de ce cestode sont disséminés dans l'environnement lors de la défécation par des humains infestés. L'hôte intermédiaire, une vache ou un porc, s'infeste en ingérant involontairement de la nourriture souillée de déjections humaines. Le parasite poursuit son cycle au sein de ce nouvel hôte, dont le dernier stade de développement implique son enkystement dans les tissus musculaires de l'animal infesté. La viande porteuse de kystes plus tard consommée par un humain, hôte définitif dans ce cycle, permettra la transmission du parasite à cet hôte définitif, la poursuite du développement du parasite, et l'émission d'une nouvelle génération d'embryophores.

Le cycle à trois hôtes (trixène)

Le cycle à trois hôtes implique généralement un stade larvaire actif et l'utilisation de la chaîne alimentaire. Les plathelminthes utilisent tout particulièrement ce type de cycle biologique, que l'on peut illustrer par le cycle de la douve du foie, *Fasciola hepatica*. L'œuf émis dans les selles d'un mammifère herbivore en zone inondée libère une larve nageuse (une miracidia) pénétrant activement le manteau d'un mollusque d'eau douce. Après une phase de multiplication asexuée dans ce premier hôte intermédiaire, des larves cercaires s'échappent du mollusque infesté afin de s'enkyster sur le second hôte, plus particulièrement sous les feuilles de végétaux hygrophiles comme du cresson. Ces végétaux consommés plus tard par des hôtes herbivores paissant en bordure de cette zone inondée, assureront la transmission via la chaîne alimentaire à l'hôte définitif. Les larves libérées de leur kyste pourront suivre leur cycle de développement jusqu'à leur organe cible (le foie dans le cas présent), atteindre le stade adulte et s'y reproduire, et pondre une nouvelle génération d'œufs.

Cycles particuliers

Dans de rares cas, qui ne sont toutefois pas rencontrés chez des parasites actuels des humains, le cycle biologique peut comporter quatre hôtes. C'est le cas notamment du trématode *Halipegus ovocaudatus*, parasite de la cavité buccale des grenouilles vertes et qui passe, avant d'atteindre cet hôte définitif, par un mollusque, un crustacé copépode, puis une libellule. Là encore, le cycle exploite d'abord une larve nageuse libre trouvant le premier hôte intermédiaire où se déroule une phase de multiplication asexuée, avant d'en sortir pour être ingérée par un copépode et de remonter la chaîne alimentaire jusqu'à l'hôte définitif.

Une certaine plasticité peut par ailleurs être observée dans la réalisation du cycle de certaines espèces, aboutissant au raccourcissement ou à l'allongement de ce cycle par le retrait ou l'ajout d'un hôte. Il est également possible que cette plasticité se soit fixée chez certaines espèces pour devenir leur cycle normal, comme chez le schistosome humain, *S. haematobium*, qui, contrairement à la plupart des trématodes, ne passe que par un seul hôte intermédiaire (le mollusque), avant que la larve cercaire n'en sorte pour directement trouver

son hôte définitif qu'elle infestera par pénétration transcutanée. L'ajout d'hôtes non obligatoires à la réalisation du cycle de développement d'un parasite peut également être observé, comme dans le cas du cestode *Diphyllobothrium latum*, parasite à l'état adulte de l'intestin de mammifères ichtyophages dont les humains. Le cycle de développement de ce parasite exploite la chaîne alimentaire, en étant d'abord ingéré par un crustacé copépode, lui-même ingéré par un poisson dulçaquicole, à son tour ingéré par un mammifère. Il se peut cependant que le deuxième hôte intermédiaire soit lui-même ingéré par un plus gros poisson carnassier. Dans ce cas, le cestode a la capacité de se ré-enkyster dans la chair de ce nouvel hôte intermédiaire en attendant l'ingestion par un hôte définitif adéquat où il pourra devenir adulte et se reproduire. Il est possible que l'opération soit répétée plusieurs fois avant d'atteindre le bon hôte. Dans le cas où un parasite se trouve ainsi temporairement transporté par un hôte non obligatoire à la réalisation de son cycle, on parle d'hôte paraténique.

Les voies de transmission

Les cycles parasitaires précédemment décrits impliquent la transmission des parasites d'un hôte à l'autre. Qu'il s'agisse de la transmission d'un hôte intermédiaire à l'hôte définitif, ou d'un hôte définitif à un nouvel hôte définitif dans le cas d'un cycle direct à un hôte (monoxène), le parasite doit pouvoir s'établir dans son nouvel hôte, et pour cela franchir la barrière de son corps. Parmi les parasites eucaryotes et particulièrement les helminthes qui seront principalement étudiés dans ce manuscrit, deux voies de transmission possibles s'imposent : la voie orale, ou la voie cutanée. Dans ce dernier cas, la transmission cutanée pourra être directe, comme dans le cas de certains parasites d'importance médicale comme le Schistosome, ou indirecte. Cette transmission indirecte passera par un vecteur, généralement un arthropode hématophage, permettant ou facilitant la transmission du parasite, comme c'est le cas chez de nombreux protozoaires mais également certains helminthes.

La transmission orale

La transmission orale est très largement utilisée comme voie d'infestation par des parasites exploitant la chaîne alimentaire. Les formes de dissémination émises dans l'environnement peuvent par exemple être ingérées involontairement via la consommation d'aliments ou d'eau de boisson souillée d'excréments animaux. En contexte anthropique, il pourra par exemple s'agir de fruits ou de légumes non lavés et dont les cultures auraient été amendées avec du fumier insuffisamment composté. Les formes de résistance présentes à la surface des fruits et légumes seraient alors involontairement ingérées par le consommateur. Le contact de la bouche avec des mains sales peut conduire au même résultat, et est une source d'infestation certaine chez les jeunes enfants à la géophagie involontaire et aux normes d'hygiène corporelle peu maîtrisées. La transmission orale concerne également de manière évidente les parasites s'enkystant au stade larvaire sur ou à l'intérieur de tissus animaux ou végétaux, comme dans le cas du Ténia du porc dont les larves enkystées dans les tissus musculaires de l'animal doivent être ingérées par un animal carnivore afin de poursuivre leur développement, ou celles de la douve du foie, enkystées sous les feuilles de végétaux hygrophiles et attendant d'être ingérées par un animal herbivore.

La transmission orale présente l'avantage certain d'offrir une voie d'accès au système digestif de l'hôte, lieu de passage de nutriments déjà partiellement digérés. Les parasites digestifs sont ainsi nombreux et diversifiés, incluant de nombreux helminthes mais également des virus comme le rotavirus, des bactéries, comme *Escherichia coli*, et des protozoaires comme *Entamoeba histolytica*. Les différents stades de développement des parasites sont souvent

induits par les *stimuli* physico-chimiques de leur environnement, qu'il s'agisse de l'environnement extérieur dans le cas des formes de dissémination, ou des différents environnements à l'intérieur de l'hôte pour ce qui est des stades infestants et larvaires. Ainsi, le développement des juvéniles du nématode *Ascaris lumbricoides* après l'émission des œufs est permis par l'exposition 3 à 4 semaines à une température de 30°C dans le sol, déclenchant la maturation du parasite. Après ingestion des œufs matures et leur transit à l'intérieur de l'hôte, ceux-ci pourront être exposés aux conditions environnementales propres aux organes traversés et stimulant la poursuite de leur développement, comme la concentration en CO₂, le pH, ou le contact des acides biliaires.

La transmission transcutanée

La transmission transcutanée est généralement le fait de formes infestantes libres qui se déplacent activement jusqu'à un nouvel hôte afin de percer ou traverser son tégument. Ce mode d'infestation est particulièrement présent chez les ectoparasites, mais s'observe également chez certains métazoaires endoparasites, comme le Schistosome.

Effectivement, les larves de *S. haematobium* présentes dans le milieu aquatique, entrent en contact avec la peau de leur hôte humain, probablement favorisé par l'utilisation du gradient de chaleur à très courte distance. L'entrée dans le tégument est permise par les organes spéciaux du parasite. Dans le cas du schistosome, l'entrée est facilitée par ses extensions cuticulaires abrasant la surface tégumentaire de l'hôte, alors que les sécrétions de ses glandes préacétabulaires ramollissent les cellules kératinisées de la couche cornée de l'épiderme. L'entrée, qui se fait par desquamation, peut également se faire par la pénétration des follicules pileux. La percée de l'épiderme est alors permise par les sécrétions des glandes postacétabulaires à l'activité protéolytique digérant les cellules de l'épiderme. Pénétrant dans le derme, les larves peuvent alors rejoindre le système circulatoire de l'hôte et poursuivre leur développement.

Tout en reposant sur d'autres *stimuli* et organes qui leurs sont propres, d'autres espèces d'helminthes percent activement le tégument de leur hôte pour l'infester, comme les larves de *Strongyloides stercoralis* ou *Ancylostoma duodenale*.

Cas de la transmission vectorielle

La transmission par vexion biologique est souvent en relation étroite avec l'infestation transcutanée, car implique l'activité d'un vecteur, le plus souvent un insecte piqueur hématophage. La définition du vecteur peut cependant être étendue à tout organisme réalisant l'étape de transmission d'un parasite nécessaire à la complétion de son cycle biologique en prélevant le parasite depuis un hôte infesté et en facilitant son entrée dans un nouvel hôte.

La transmission par vexion présente l'utilité certaine pour un parasite de ne pas devoir dépenser d'énergie dans la recherche active d'un nouvel hôte, voire de ne jamais devoir passer dans le milieu extérieur. La viabilité de la vexion biologique est permise par la spécificité du spectre d'hôte des vecteurs. Ainsi, des moustiques ne piquant la plupart du temps qu'une espèce de mammifères ou quelques espèces proches, assureront aux parasites qu'ils transmettent par ailleurs de bien rejoindre l'hôte adéquat. L'activité des vecteurs, le choix des hôtes, et la poursuite du développement une fois le nouvel hôte investi, sont à nouveau conditionnés par les *stimuli* physico-chimiques et la biologie propres à chaque espèce de vecteur et de parasite.

La transmission par contact d'hôtes

Ce mode de transmission nécessite le contact plus ou moins prolongé entre deux hôtes pour que le parasite puisse se transmettre de l'un à l'autre. Cela concerne un certain nombre d'infections sexuellement transmissibles (IST), au titre desquelles chez les parasites eucaryotes, *Trichomonas vaginalis* est l'IST la plus fréquente au monde chez les humains. C'est également un mode de transmission très répandu chez les arthropodes ectoparasites comme le pou (*Pediculus capitis*), le sarcopte de la gale (*Sarcoptes scabiei*), ou le morpion (*Phthirus inguinalis*). Là encore, la transmission est conditionnée par les *stimuli* propres à chaque relation hôte-parasite. Chez la puce du lapin par exemple (*Spilopsyllus caniculi*), la femelle qui est en permanence attachée à l'oreille d'une lapine afin d'y prendre son repas sanguin, est sensible aux changements hormonaux de cette dernière dès lors qu'elle copule. La cascade comportementale qui en découle chez la puce, incite celle-ci alors gorgée de sang, à se placer sur le visage de la lapine de sorte à sauter sur un lapereau lorsqu'elle le toilette. La puce pond alors ses œufs et dépose ses déjections riches en sang de sorte à nourrir sa progéniture. La puce, qui se nourrit alors sur le lapereau, est sensible à l'abaissement du taux de corticostéroïde du lapin une semaine après sa naissance, et retourne alors sur la lapine, en laissant ses œufs et ses déjections sur le lapereau maintenant infesté.

Conclusion

Ces principes basiques de parasitologie dont certains pourront être développés plus loin selon les besoins, présentent donc le cadre théorique fondamental sur lequel repose ce travail, et *a fortiori* la paléoparasitologie. Loin de faire une revue exhaustive des subtilités infinies du mode de vie parasitaire dans le monde vivant, ils fournissent les clefs conceptuelles minimales nécessaires à la saisie d'une discipline comme la paléoparasitologie, son application à des contextes anciens et aux interprétations qui seront dès lors permises en connaissance de contraintes écologiques ayant logiquement conditionné la présence de ces organismes en un lieu donné du passé ou au sein d'une population archéologique. Ces concepts utiles à la bonne compréhension de la discipline englobent les notions d'hôtes, d'interactions parasites-hôtes-environnement, de cycles biologiques et de transmission. *In fine* et au-delà des interprétations relatives aux contextes dans lesquels ces parasites seront observés, il convient de rappeler que leur étude *per se*, à savoir leur histoire naturelle, leur paléo-distribution, leur circulation, leur évolution moléculaire et la détection de taxons ou de relations parasitaires aujourd'hui inconnues, représentent également des axes majeurs de la discipline.

Chapitre 2 : Parasites dans le registre subfossile du bassin méditerranéen Holocène, un état de l'art.

Ce chapitre est en cours de publication scientifique.

Introduction

Ce chapitre passe en revue les observations directes d'agents pathogènes dans du matériel ancien, plutôt que leurs manifestations pathologiques éventuellement visibles sur les restes conservés des individus infectés. L'approche regroupe toutes les mentions d'agents de parasites métazoaires et protozoaires, indépendamment des méthodes employées pour leur détection. Les bornes chrono-géographiques de cette revue concernent un large bassin méditerranéen durant l'Holocène et ses marches écotonales. Plusieurs disciplines contribuent à l'étude de l'histoire naturelle des agents infectieux dans des échantillons anciens, comme la paléomicrobiologie, la paléoparasitologie ou l'ostéoarchéologie. Nous accentuons cependant ici notre cœur de spécialité, à savoir la paléo-helminthologie / protozoologie. Une revue complémentaire des autres types de parasites (bactéries, virus, champignons) se trouve en annexe.

Différentes revues de la littérature ont été faites ces deux dernières décennies, mais étaient généralement limitées à des aires géographiques ou à des taxons ne recoupant pas les limites du présent travail (Appelt *et al.*, 2016 ; Bouchet *et al.*, 2003 ; Dufour *et al.*, 2015 ; Forbes *et al.*, 2013 ; Gonçalves *et al.*, 2003 ; Le Bailly and Bouchet, 2013 ; Le Bailly *et al.*, 2016 ; Côté et Le Bailly, 2017 ; Wood, 2018).

L'espace ici considéré est celui d'un large bassin méditerranéen et de ses marges écotonales. En effet, cet espace peut être défini selon deux acceptions qui nous paraissent faire sens et justifier une telle sélection géographique pour notre sujet d'étude. A la suite de Horden et Purcell (2000) on peut retenir en premier lieu la définition géographique unitaire : les caractéristiques climatiques, géologiques, pétrologiques, et écologiques communes des régions longeant la Mer Méditerranée et l'unifiant comme entité géographique à part entière. Il s'agit de l'acception « écologisante » pour reprendre ces auteurs. La deuxième acception peut être qualifiée « d'interractionniste », et elle repose sur la centralité archéologiquement et historiquement documentée de la mer Méditerranée dans des réseaux d'échanges intenses entre les sociétés méditerranéennes ; centralité parfaitement conscientisée et revendiquée, comme illustré par le qualificatif de *Mare Nostrum* (Notre Mer), donnée à la Méditerranée par les Romains et qui trouve certains équivalents, notamment chez les Grecs anciens. Ces réseaux lient *de facto* les communautés de la côte Levantine à celles des Portes d'Hercule, de l'Égypte et de l'Italie, dont les voyageurs ont eu tôt fait de remarquer que les routes maritimes de port à port reliés par cabotage étaient bien plus facilement praticables que les routes terrestres, et ainsi de mettre la mer, dont les routes dessinaient les contours, au centre de leur monde habité (Horden et Purcell, 2000).

Les Helminthes

Les helminthes sont des vers parasites. Ils peuvent être intestinaux ou extra-intestinaux. Leurs restes sont souvent observés dans des échantillons archéologiques. Leur découverte est facilitée par la possibilité, en ce qui concerne les espèces ovipares, de détecter leurs œufs

microscopiques disséminés dans l'environnement par des hôtes infestés lors de diagnostic de routine sous microscopie optique. La combinaison de la microscopie et de la recherche d'ADN ancien (ADNa), bien qu'encore peu répandue, a montré son très grand intérêt dans ce domaine (Appelt *et al.*, 2014 ; Côté *et al.*, 2016 ; Côté et Le Bailly, 2017 ; Flammer *et al.*, 2018 ; Jaeger and Iniguez, 2014; Sjøe *et al.*, 2018; Wood *et al.*, 2013 ; Wood, 2018).

Ainsi, différentes espèces des deux grands phylums de parasites, les Némathelminthes (vers ronds) et les Plathelminthes (vers plats), ont été observées dans des échantillons anciens. Chez les Némathelminthes, seule la classe des Nématodes contient des vers parasites. Chez les Plathelminthes, les classes des Digènes, des Monogènes et des Cestodes contiennent toutes trois des espèces parasites. La classe des Acanthocephales contient également des espèces parasites détectées dans le registre archéologique et qui seront revues ici.

Les Nématodes (vers ronds)

Les espèces de vers ronds sont à la fois très ubiquistes et très nombreuses. Les espèces parasites de Nématodes sont effectivement adaptées à une grande diversité d'hôtes tout aussi bien vertébrés qu'invertébrés, dont les humains (Bogitsh *et al.*, 2013b). Anderson (1984) a ainsi rapporté que ces deux groupes (vertébrés et invertébrés) étaient respectivement parasités par 83 et 42 familles de Nématodes. Parmi ces familles, celles des *Ascarididae*, *Toxocaridae*, *Oxyuroidea*, *Trichuroidae*, *Capillariidae*, *Dracunculidae* et *Strongyloidea* ont été observées en contexte méditerranéen ancien. Elles incluent les genres *Ascaris* et *Trichuris*, deux géohelminthes aujourd'hui agentes d'importantes pathologies tropicales négligées.

Ces deux genres sont les taxons les plus ubiquistes du registre subfossile. En effet, ils apparaissent respectivement sur 60% (N=54) et 40% (N=38) des 97 sites archéologiques, phases d'occupation ou assemblages de momies naturelles ou artificielles où des helminthes ont été détectés et qui ont été identifiés pour cette revue. Les plus anciennes détections de l'*Ascaris* concernent les sites archéologiques de Shillourokambos (8500 avant notre ère) et Khirokitia à Chypre (4640 ± 260 avant notre ère), et La Draga en Espagne (5320-4980 avant notre ère). Les plus anciennes mentions du *Trichuris* concernent le site turc de Çatalhöyük (6410-6150 avant notre ère), et de La Draga en Espagne (5320-4980 avant notre ère). L'*Ascaris* a également été décrit dans des coprolithes du Pléistocène sur le site des Ramandils en France (Lartigot-Campin et Mone, 2017). Globalement, l'*Ascaris* a été détecté de l'Espagne au Levant, et de la France au Soudan. Ces quatre zones ont par ailleurs alimenté la majorité du corpus ici étudié. D'autres zones ont également donné lieu à des observations, comme la Grèce, l'Italie, le Portugal, la Syrie, et la Tunisie. La distribution du *Trichuris*, légèrement moins couramment observé que l'*Ascaris*, est néanmoins similaire à ce dernier.

D'autres Nématodes ont également été observés dans le bassin Méditerranéen. Ils incluent *Toxocara cati* à Chypre à l'époque préhistorique, et au Portugal à l'époque moderne. La toxocarose du chien, *T. canis*, a également été détectée en Israël pour l'époque médiévale. L'*Ascaris* du cheval, *Parascaris univalens*, a été détecté en Jordanie au Haut Moyen Âge. L'Oxyure du cheval, *Oxyuris equi* a été identifié en France à l'époque antique, tandis que l'Oxyure du rat, *Syphacia obvelata* a été identifié au Soudan ancien. Différents taxons du genre *Capillaria* ont été observés en Espagne à l'époque préhistorique, en France à l'époque romaine et médiévale, et en Italie à l'époque romaine. *Enterobius vermicularis*, l'Oxyure des humains, a été détecté en Espagne préhistorique, en Grèce à l'époque romaine, en France à l'époque médiévale, et en Israël à l'époque antique. Différentes espèces du genre *Strongyloides* ou de type Strongyle ont été observées en Égypte, Grèce, France et Italie à

l'époque antique. Tout comme les espèces du genre *Capillaria*, l'identification des Strongyles au niveau spécifique est rendue quasiment impossible par le recoupement des traits morphométriques de différentes espèces. *Dracunculus medinensis* et *Trichinella spiralis* ont également été détectés en Égypte antique. Ce dernier cas, initialement observé lors de l'étude histologique de tissus musculaires momifiés a néanmoins récemment été remis en question et devrait être considéré avec précaution (Michalik *et al.*, 2015). *T. spiralis* a également été détecté en Espagne au 19^{ème} siècle. Enfin, des filaires ont été observées pour l'Égypte ancienne.

Les Trématodes (vers plats non segmentés incluant les Digènes et les Monogènes)

Parmi les sous-classes de Trématodes, seule celle des Digènes a donné lieu à des observations dans le registre méditerranéen ancien. Cela n'est pas surprenant puisqu'en effet la majorité de ces observations vient du registre archéologique, et que la classe des Monogènes concerne exclusivement des ectoparasites de poissons (Bogitsh *et al.*, 2013d). Peu de matériaux archéologiques sont susceptibles d'en conserver les traces. Il est cependant utile de mentionner les cas exceptionnels de traces fossiles de possibles Monogènes observées à la surface de placodermes et d'acanthodiens dévoniens en Lituanie (De Baets *et al.*, 2015). Dans ce cas, ce ne sont pas les œufs qui ont été observés mais les crochets fossilisés des vers adultes, imprimés dans la chaire de leurs hôtes.

A contrario, les Digènes sont exclusivement des parasites internes dont l'hôte final est un vertébré. Ils peuvent donc être détectés en contexte archéologique, paléontologique ou paléoenvironnemental par l'analyse de sols d'occupation, de paléofèces ou coprolithes, de sédiments de latrines et d'égouts, *etc.* Parmi les familles les plus importantes de Digènes, celles des *Fasciolidae*, *Dicrocoeliidae*, *Opistorchiidae* et *Schistosomatidae* ont été observées dans les limites de cette revue. Toutes ont un impact important sur la santé humaine et vétérinaire de nos jours.

Différentes espèces du genre *Schistosoma* ont ainsi été détectées. Il s'agit du Trématode le plus couramment observé dans cette revue. Il apparaît effectivement dans 20% des sites (n=16), phases d'occupation ou assemblages de momies de ce corpus. Sa détection est globalement restreinte à l'Égypte et au Soudan, mais il a également été détecté en Syrie à l'époque préhistorique. Ce dernier cas ne concerne qu'un seul spécimen d'œuf observé sur le site de Tell Zeidan, qui constitue la plus ancienne occurrence actuellement connue de Schistosome (4550-4050 avant notre ère). D'autres observations devraient permettre d'asseoir ce diagnostic. *Fasciola sp.* a été détecté en France à l'époque médiévale, ainsi qu'en Italie, en Grèce et en Égypte antiques. *Dicrocoelium dendriticum* a été observé en Espagne préhistorique, en France médiévale, en Italie à l'époque romaine et médiévale, en Turquie, et en Israël antiques. Par ailleurs, des œufs de *Dicrocoelidés* ont également été observés dans un coprolithe et du sédiment sous-jacent du Pléistocène moyen (550 000 avant notre ère) en France. Le coprolithe analysé a été identifié comme celui d'un ursidé (Jouy-Avantin *et al.*, 1999). *Opistorchis sp.* a été détecté en Italie à l'époque romaine. Finalement, la douve des ruminants, *Paramphistomum sp.*, a été observée en Espagne préhistorique ainsi qu'en France à l'époque médiévale, alors que des *Paramphistomatidae* non identifiés ont été observés en Égypte ancienne au 4^{ème} millénaire avant notre ère (Nezamabadi, 2014).

Les Cestodes (vers plats segmentés)

Les cestodes constituent une sous-classe des vers plats parasites. Ils sont hautement spécialisés et infectent le tube digestif de nombreuses espèces de vertébrés, dont les humains. La plupart des Cestodes ayant une importance médicale ou vétérinaire appartiennent à l'ordre de *Cyclophyllidae* et dans une moindre mesure à celui des *Pseudophyllidae* (Bogitsh *et al.*, 2013a). Pour le premier, les détections dans le registre archéologique en Méditerranée ne concernent que la famille des *Taeniidae* représentée par les espèces *Taenia saginata*, *Taenia solium* et *Echinococcus granulosus*. Le second est représenté essentiellement par différents taxons du genre *Diphyllobothrium*.

Les Ténias sont les Cestodes les plus communément observés dans cette revue. Ils apparaissent effectivement sur 21% des sites de ce corpus. La plus ancienne occurrence concerne le site Néolithique de Shillourokambos à Chypre, daté de 7600 à 6500 ans avant notre ère. De manière intéressante, les Ténias sont essentiellement observés sur les rivages Sud-Est de la Méditerranée, à savoir à Chypre, au Levant, en Égypte et au Soudan, alors qu'ils sont rarement vus, sinon totalement absents des zones septentrionales. Leur ancienneté en Europe est néanmoins bien attestée par leur détection sur le site Néolithique de La Draga, en Espagne, daté de 5300 à 5100 ans avant notre ère. Les Ténias ont également été détectés en Italie durant l'Antiquité. *Echinococcus granulosus* a été détecté en Israël et en Égypte anciennes. Sa reconnaissance spécifique y est basée sur l'observation de kystes hydatiques observés en contexte funéraire (Zias and Mumcuoglu 1991 ; Tapp 1984). Enfin, le Bothriocéphale, *Diphyllobothrium* spp., qui est typiquement observé dans les régions nord-alpines depuis le Néolithique, a principalement été détecté au Sud-Est de la Méditerranée en ce qui concerne cette revue. On en trouve ainsi mentions en Espagne et à Chypre dès le Néolithique, en France à l'époque antique, en Israël aux époques antique, médiévale, et moderne, en Italie à l'époque médiévale, ainsi qu'en Égypte ancienne.

Les Acanthocéphales (vers à tête épineuse)

Le phylum des Acanthocéphales est apparenté à celui des Nématodes. Il contient plusieurs espèces d'importance vétérinaire (Taylor *et al.*, 2007). Dans les limites de cette revue, il est possible de citer le genre *Macracanthorhynchus* sp., qui a été détecté en Espagne Néolithique (Maicher *et al.*, 2017), ainsi qu'en France Médiévale (Dufour, 2015). Ce parasite intestinal est aujourd'hui communément trouvé chez le porc domestique et sauvage. Certaines espèces peuvent également parasiter des rongeurs, carnivores, ainsi que l'humain. Des Acanthocéphales non identifiés ont été observés en Égypte sur les sites de Hiérakonpolis et de Kellis, respectivement datés de 3900 à 3300 avant notre ère, et du 1^{er} siècle avant notre ère au 4^{ème} siècle de notre ère (Horne, 2002 ; Nezamabadi, 2014).

Les Protozoaires (eucaryotes unicellulaires)

Les protozoaires sont des micros eucaryotes appartenant au règne des *Euprotista*. Ils diffèrent des autres unicellulaires tels les bactéries et les archées par la présence d'un noyau séparant leur génome (de fait nucléaire), du reste du cytoplasme, ainsi que d'autres organites comme les mitochondries (et séquestrant le génome mitochondrial).

Les protozoaires sont extrêmement diversifiés et leur phylogénie exacte toujours débattue. Cependant, une très petite quantité de taxons a été détectée en ce qui concerne les espèces parasites dans le bassin méditerranéen. En effet, la majorité des détections en

paléoparasitologie se font sous microscopie optique. Or, les oocystes de protozoaires sont bien plus petits que les œufs d'helminthes, et ne sont que difficilement visibles lors de ces diagnostics optiques, même après concentration des spécimens parasitaires. Par ailleurs, leur morphologie est peu spécifique, ce qui nuit gravement à l'identification d'espèces en cas d'observation. En conséquence, la plupart des diagnostics viennent de méthodes immunologiques et de la recherche d'ADNa, qui ont l'avantage d'être extrêmement spécifiques, mais beaucoup plus rarement utilisées que la microscopie à l'heure actuelle.

Néanmoins, des agents infectieux majeurs en santé humaine ont pu être mis en évidence dans des échantillons anciens. Nous décrivons chacun d'eux brièvement ci-dessous.

Les Apicomplexés

Plasmodium spp.

P. falciparum appartient au phylum des *Apicomplexés*. Ce parasite transmis par les moustiques infecte les globules rouges des humains à qui il est transmis et dont il est le principal agent de la malaria (ou paludisme). La maladie peut également être causée par les espèces *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* et *P. knowlesi*. C'est actuellement le premier fardeau parasitaire au monde par le nombre de personnes infectées et rendues malades. En effet, la moitié de la population humaine mondiale vit actuellement dans des zones d'endémie du paludisme.

Depuis le début du 21^{ème} siècle, le nombre de cas a néanmoins très fortement baissé pour arriver aux environs de 200 millions par ans grâce à des campagnes intégratives à grande échelle incluant bithérapie et contrôle des vecteurs arthropodes par l'emploi d'insecticide. L'OMS rapportait ainsi 212 millions de cas de malaria en 2015 et 429 000 décès (OMS, 2016b).

La malaria est souvent perçue comme une maladie tropicale, mais il est utile de rappeler qu'elle n'est absente d'Europe et d'Amérique du Nord que depuis le milieu du 20^{ème} siècle grâce à des campagnes massives de contrôle de ses vecteurs (Hay *et al.*, 2004). En effet, la malaria due notamment à *P. vivax* était communément rapportée en Finlande jusqu'au 19^{ème} siècle et la malaria à *P. falciparum* l'était en Russie jusque dans les années 30 (Huldén *et al.*, 2005). Par ailleurs, la co-évolution ancienne entre le *Plasmodium* et les humains est maintenant bien établie (Prugnole *et al.*, 2015).

Dans des échantillons anciens, *P. falciparum* a principalement été détecté en Égypte ancienne (Bianucci *et al.*, 2008 ; Khairat *et al.*, 2013 ; Lalremruata *et al.*, 2013 ; Zink *et al.*, 2001 ; Rabino Massa *et al.*, 2000 ; Cerutti *et al.*, 1997 ; Taylor *et al.*, 1997 ; Miller *et al.*, 1994), mais également en Italie antique et moderne (Fornaciari *et al.*, 2010 ; Marciniak *et al.*, 2016 ; Sallares *et al.*, 2001). En Espagne, l'analyse d'échantillons médicaux du milieu du 20^{ème} siècle a permis de détecter la souche européenne éradiquée de *P. vivax* (Gelabert *et al.*, 2016 ; van Drop *et al.* 2019).

Parmi les premières études réalisées sur des échantillons anciens, des fréquences de 40 à 90% ont été mises en évidence dans des collections de momies égyptiennes à l'aide du test d'immunodiagnostic ParaSight (Miller *et al.*, 1994 ; Rabino-Massa *et al.*, 2000). Néanmoins, des études ultérieures basées sur l'extraction d'ADNa n'ont pas retrouvé ces hautes fréquences de paludisme dans ces mêmes collections (Nerlich *et al.*, 2008). Cette divergence

pourrait être due à la tendance ultérieurement découverte du test Parasight à produire un grand nombre d'erreurs de type I par sa réaction croisée avec des facteurs rhumatoïdes (Laferi *et al.*, 1997 ; Iqbal *et al.*, 2000 ; Bartoloni *et al.*, 2000). Dans cette situation, les études les plus récentes et conservatrices, basées sur l'extraction d'ADNa, sont à privilégier pour estimer la fréquence du paludisme dans les populations anciennes.

La paléoparasitologie du *Plasmodium*, en cela qu'elle permet de mieux saisir l'évolution et l'écologie passée de l'un des fardeaux infectieux les plus importants de l'histoire et de l'époque actuelle, devrait être encouragée. Cela peut être illustré par le travail de Lucy van Dorp et ses collègues (2019) qui ont analysé des lames d'échantillons médicaux datant de 1944 en Espagne et prélevés auprès de patients atteints de paludisme. Ils ont pu y détecter la souche européenne actuellement éteinte de *P. vivax* et montrer sa position phylogénétique basale vis-à-vis des souches circulant actuellement en Amérique et, après calibration, estimer cette divergence au 15^{ème} siècle. Les auteurs ont ainsi pu discuter de la migration transcontinentale de *P. vivax*, ceci à la faveur de la colonisation européenne plutôt que des migrations des premiers américains.

Toxoplasma gondii

T. gondii est un *Apicomplexé*. Ce protozoaire infecte les muscles, les ganglions lymphatiques et les tissus intestinaux de ses hôtes. Il reste généralement asymptomatique, mais peut avoir des conséquences graves chez le fœtus et les personnes immunodéprimées.

C'est aujourd'hui une zoonose ubiquiste qui peut être acquise par la consommation de viande insuffisamment cuite ou par contact avec des hôtes animaux non humains comme le chat domestique ou sauvage. Le premier cas médical a été rapporté en 1940 seulement, mais l'ancienneté de cette infection chez les humains est bien documentée par Khairat *et al.* (2013), qui ont pu en extraire l'ADNa de tissus musculaires de momies datées entre la Troisième époque Intermédiaire et l'époque romaine en Égypte. L'analyse métagénomique des données obtenues par séquençage haut-débit a également permis de détecter l'agent du paludisme, *P. falciparum*, dans les mêmes échantillons à cette occasion, démontrant ainsi un cas de co-infection *Plasmodium* / *Toxoplasme* en Égypte ancienne.

Cryptosporidium parvum

C. parvum appartient également au phylum des *Apicomplexés*. C'est un parasite intestinal ubiquiste qui infecte les humains et d'autres mammifères. L'infection a généralement lieu par l'ingestion accidentelle de kystes dans de l'eau de boisson polluée. Ce mode d'infection est souvent l'occasion d'épidémies locales autour d'un réseau pollué de distribution d'eau par des déjections humaines. L'importance médicale de ce protozoaire est apparue en particulier au 20^{ème} siècle lors de l'épidémie de SIDA dont la cryptosporidiose était une infection opportuniste.

En revanche, peu de traces de ce parasite en ont été retrouvées dans le registre subfossile (Mitchell *et al.*, 2008). Parmi celles-ci, les coprolithes de la chèvre des Baléares, aujourd'hui éteinte, *Myotragus balearicus*, Bate 1909 (*Artiodactyla*, *Caprinae*), ont donné lieu à l'observation de kystes d'amibes, mais également à la détection de la cryptosporidiose par l'utilisation de kits d'immunodiagnostic ELISA (Borba Nunes *et al.*, 2017).

Eimeria sp.

Eimeria (syn. *Coccidia*) appartient au phylum des *Apicomplexés*. Ce parasite intestinal peut causer diarrhée et déshydratation chez les animaux infectés et provoquer des retards de croissance, voire la mort. Plus de 100 espèces sont actuellement connues qui infectent le tube digestif d'hôtes vertébrés et invertébrés, notamment le bétail, le mouton et la chèvre.

Bien qu'ayant une grande spécificité d'hôte, il n'est pas forcément possible d'identifier clairement les kystes retrouvés en contexte archéologique. Les kystes observés à Hiérakonpolis en Égypte et datés de 3900-3200 avant notre ère illustrent bien cela : les paléofèces d'où ils ont été extraits n'ont pas pu être identifiés avec certitude (humain et / ou carnivore), interdisant *de facto* l'identification spécifique des kystes observés (Nezamabadi, 2014).

Les Flagellés

Giardia intestinalis

Comme c'est souvent le cas des espèces du phylum des *Metamonada*, *G. intestinalis* (syn. *G. lamblia* ou *G. duodenalis*), parasite le tube digestif de l'humain et d'autres mammifères. Il s'agit d'un protozoaire très cosmopolite, l'une des parasitoses humaines à la prévalence la plus élevée à l'heure actuelle. Le risque d'infection est accru par l'utilisation d'installations sanitaires insuffisantes ou inefficaces. En effet, l'infestation se produit généralement par la consommation d'eau de boisson polluée par des excréments humains (à proximité d'un système d'égout défaillant par exemple). Par ailleurs, certains animaux sauvages peuvent agir comme des réservoirs et être à l'origine d'épidémies locales.

Dans le registre subfossile méditerranéen, la giardose a rarement été documentée. Ce parasite a été détecté au Levant médiéval et moderne par exemple (Mitchell *et al.*, 2008 ; Eskew *et al.*, 2019). Des observations plus anciennes sur des échantillons de l'époque antique sont aujourd'hui controversées pour le manque de spécificité des spécimens observés (Witenberg 1961). Récemment néanmoins, Williams *et al.* (2017) a bien détecté *G. intestinalis* (ou *G. duodenalis*) dans des échantillons provenant des latrines des bains romains de l'époque Impériale de Sagalassos en Turquie, par la méthode ELISA. Cette étude a ainsi fourni l'occurrence la plus ancienne actuellement connue de *G. intestinalis* dans l'Ancien Monde, et ce grâce à un test diagnostic hautement spécifique.

Leishmania spp.

Plusieurs espèces du genre *Leishmania*, appartenant au phylum des *Euglenozoa*, parasitent l'espèce humaine. La transmission est vectorielle et repose sur une trentaine d'espèces de mouches piqueuses qui peuvent transmettre le parasite à l'hôte mammifère pendant leur repas sanguin. L'infection peut conduire à plusieurs conditions pathologiques, principalement la leishmaniose viscérale (LV), et aboutir à la mort de la personne infectée. Aujourd'hui, 90% des cas connus de leishmaniose se déclarent dans le Nord-Est de l'Inde, au Bangladesh, au Népal, au Soudan, et dans le Nord-Est du Brésil. Les deux agents principaux de la LV sont *L. donovani* et *L. infantum*, scientifiquement documentés depuis le début du 20^{ème} siècle.

Peu de mentions existent de la Leishmanie dans le registre subfossile du bassin méditerranéen. Cependant, l'ADNa de *L. donovani* a été extrait d'échantillons d'Égypte

ancienne (Zink *et al.*, 2006), et celui de *L. infantum* dans des échantillons italiens de l'époque moderne (Nerlich *et al.*, 2012), confirmé par immunodiagnostic. Les échantillons égyptiens ayant livré la séquence de *L. donovani* consistaient en tissus osseux de momies datées de 2050 à 1650 avant notre ère et découvertes dans la nécropole de Thèbes-Ouest, ainsi que d'échantillons de moelle prélevés dans les sépultures paléo-chrétiennes de Kulubnarti (aujourd'hui au nord Soudan). Les échantillons italiens ayant livré la séquence de *L. infantum* consistaient en tissus osseux prélevés sur les restes d'Eléonore de Tolède (1522-1562), femme de Cosme I^{er} de Médicis. Cette observation permet d'éclairer la circulation de la leishmaniose au sein de l'élite politique européenne de la Renaissance.

Les Amibes

Entamoeba histolytica

Les amibes appartiennent au phylum des *Rhizopoda* qui comprend un grand nombre d'espèces non pathogènes pour les humains. *E. histolytica* est cependant une exception à cela puisque sa grande pathogénicité peut conduire à la mort. *E. histolytica* est l'agent de l'amébose dysentérique et peut se rencontrer dans une grande variété d'environnements. L'infection s'acquiert typiquement via l'ingestion involontaire de kystes contenus dans de l'eau ou de la nourriture polluée par des excréments.

E. histolytica a été scientifiquement documentée pour la première fois en 1875, mais sa détection dans le registre subfossile montre sa plus grande ancienneté. Le registre, construit sur l'immunodiagnostic, a en effet permis de détecter ce parasite en France pour l'époque médiévale, mais également en Grèce à une époque comprise entre 5000 et 2000 ans avant notre ère. La plupart des données proviennent actuellement de l'Antiquité et du Moyen Âge. Par la même méthode, l'amibe a également été détectée dans les paléofécès de la chèvre des Baléares, *Myotragus balearicus*, Bate 1909, aujourd'hui éteinte, et datés du 3^{ème} millénaire avant notre ère. Le Bailly *et al.*, (2016) ont récemment passé en revue toutes les mentions paléoparasitologiques de l'amibe.

Vecteurs, champignons, bactéries et particules virales

Il convient de souligner qu'un certain nombre de microparasites (bactéries et particules virales) ont été observées dans les limites géographiques de cette revue. Cela concerne notamment le VARV, le HBV, *Bartonella quintana*, *Mycobacterium tuberculosis* et *M. leprae*, *Salmonella enterica*, *Treponema pallidum* et *Yersinia pestis*. Ces détections, en dehors de la revue des parasites eucaryotes présentée au cours de ce chapitre, sont abordées plus en détails en annexes.

Pathogènes et vecteurs observés dans le registre archéologique Méditerranéen holocène					
Virus	Bactéries	Protozoa	Fungi	Helminthes	Arthropodes
VARV HBV	<i>Bartonella quintana</i> <i>Mycobacterium leprae</i> <i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Salmonella enterica</i> <i>Treponema pallidum</i> <i>Yersinia pestis</i>	<i>Cryptosporidium spp.</i> <i>Eimeria sp.</i> <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Giardia intestinalis</i> <i>Leishmania spp.</i> <i>Plasmodium spp.</i> <i>Toxoplasma gondii</i>	<i>Aspergillus sp.</i>	<i>Ascaris spp.</i> <i>Capillaria spp.</i> <i>Dicrocoelium dendriticum</i> <i>Diphyllobothrium spp.</i> <i>Dracunculus medinensis</i> <i>Echinococcus sp.</i> <i>Enterobius vermicularis</i> <i>Fasciola sp.</i> <i>Filaria</i> <i>Metastrongylus sp.</i> <i>Hymenolepis sp.</i> <i>Macracanthorhynchus sp.</i> <i>Opisthorchis sp.</i> <i>Oxyuris equi</i> <i>Paramphistomum sp.</i> <i>Parascaris univalens</i> <i>Raillietina sp.</i> <i>Schistosoma spp.</i> <i>Strongyloides stercoralis</i> <i>Syphacia obvelata</i> <i>Taenia spp.</i> <i>Toxocara spp.</i> <i>Trichinella spiralis</i> <i>Trichuris spp.</i>	<i>Hippobosca longipennis</i> <i>Pediculus humanus capitis</i> <i>Pediculus humanus humanus</i> <i>Pulex irritans</i> <i>Rhipicephalus sanguineus</i> <i>Sarcosaprophagous flies</i>

Tableau 1 Récapitulatifs des pathogènes, parasites et vecteurs détectés au cours de cette revue. Les tableaux détaillés sont consultables en annexes.

La diversité parasitaire observée dans le registre subfossile du bassin méditerranéen

En ne considérant que les endoparasites transmissibles aux humains, la vaste majorité des données ici passées en revue concerne les helminthes. En effet, ce groupe compte au moins pour 51,3% de la diversité décrite, suivi des bactéries (21,6%), des protozoaires (19%), des virus (5,4%) et des champignons (2,7%) (la revue des parasites autres qu'helminthes, protozoaires et arthropodes se trouve en annexe).

Selon Cleaveland *et al.* (2001), plus de 1400 agents infectieux sont actuellement connus pour être transmissibles à l'espèce humaine. Parmi ceux-ci, les bactéries comptent pour 38% de la diversité spécifique observée, suivies par les champignons (22%), les helminthes (20%), les virus (15%), et les protozoaires (5%). Ainsi, le registre subfossile ne reflète pas la diversité

spécifique actuellement connue : les helminthes et les protozoaires y sont très surreprésentés. Dans le même temps les champignons apparaissent à peine dans le registre subfossile (Horne and Redford, 1995).

Cette relation est aisément expliquée par l'histoire de la discipline. En effet, la détection d'helminthes repose principalement sur la recherche en microscopie optique d'œufs préservés dans des échantillons anciens, comme des paléofèces ou du sédiment. Ces investigations sont extrêmement chronophages mais peuvent être pratiquées de manière routinière par un opérateur entraîné. De plus, toutes les espèces d'helminthes ovipares peuvent théoriquement être détectées par le diagnostic visuel dans ce type d'échantillons : cette méthode diagnostique est très peu sélective.

A contrario, la détection d'autres groupes de parasites, comme les protozoaires, repose sur des méthodes très spécifiques, immunologiques ou paléogénétiques, qui ne sont pas conduites de manière routinière actuellement en plus d'être généralement très sélectives dans les taxons recherchés et identifiés (Côté & Le Bailly, 2018).

Selon de Meeûs *et al.* (2007), 179 espèces de parasites eucaryotes sont communément trouvées infectant l'espèce humaine. Parmi celles-ci se trouvent 34 espèces d'helminthes. Lorsque l'on considère ce groupe de parasites, qui est donc celui ayant donné la plus grande richesse taxonomique dans le registre subfossile, on constate que la majorité de ces parasites connus à l'heure actuelle chez l'espèce humaine ont été mis en évidence dans des échantillons anciens, notamment différentes espèces des genres *Echinococcus*, *Diphyllobothrium*, *Hymenolepis*, *Taenia*, *Schistosoma*, *Fasciola*, *Toxocara*, *Strongyloides*, mais également les genres *Clonorchis*, *Trichuris*, *Ascaris*, ainsi que les espèces *E. vermicularis*, *Dracunculus medinensis* et *Trichinella spiralis*. L'absence de certains taxons (genre ou espèce) dans cette revue s'explique généralement par leur localisation géographique normale en dehors du bassin méditerranéen, comme *Necator americanus* présent sur le continent américain, *Paragonimus westermani* sur le continent asiatique, ou *Loa loa* dans le golfe de Guinée.

La plupart des observations rapportées viennent d'un petit nombre de localisations géographiques, comme la vallée du Nil en Égypte et au Soudan, la côte levantine, ou le sud de la France. Cette distribution géographique s'explique par plusieurs biais. D'abord, les échantillons étudiés proviennent majoritairement de sites archéologiques conditionnés par les implantations humaines, plus agrégatives qu'homogènes dans l'espace. Ensuite, ces observations sont hautement dépendantes du registre archéologique et donc de la collecte et de la préservation d'échantillons adéquats pour les observations paléoparasitologiques, ainsi qu'à l'histoire propre de cette discipline. Ainsi, le grand intérêt pour l'égyptologie et notamment les momies égyptiennes au 19^{ème} siècle a directement conditionné la première observation paléoparasitologique en 1910 ainsi que l'invention de la paléopathologie indépendant de la définition donnée par Shuffeldt en 1893 et plus ancrée dans la paléontologie (Ruffer, 1910).

Par ailleurs, des pratiques culturelles aussi bien que des conditions environnementales particulières peuvent favoriser localement la préservation et la détection ultérieure de parasites, comme la momification artificielle ou naturelle. De surcroît, ces conditions peuvent biaiser la représentation de certaines infections, comme les parasitoses cutanées et lymphatiques qui n'ont été observées que chez des momies égyptiennes.

Il reste cependant possible de dégager quelques grandes lignes quant à la distribution de ces parasitoses, en dépit des biais précédemment évoqués. Les villes de Pineuilh dans le sud-Ouest de la France et de Wadi Halfa à la frontière de l'Égypte et du Soudan représentent respectivement les bornes septentrionale et méridionale des sites pris en compte dans cette discussion.

Les parasites ubiquistes

Certains parasites sont bien adaptés à une large radiation mondiale. Ils sont à la fois écologiquement cosmopolites et résistants aux processus de dégradation dans le sol, ce qui permet de les retrouver presque partout où ils sont recherchés. Il s'agit typiquement de plusieurs espèces de Nématodes, principalement *Ascaris* sp., et *Trichuris* sp. On les trouve dans le passé, distribués très largement à travers le monde et ici en Méditerranée, depuis la péninsule Ibérique jusqu'au Levant, du sud de la France à la vallée du Nil (**Figure 1**).

De nos jours, ces parasites sont globalement absents d'Europe Occidentale du fait des avancées en santé et hygiène publiques depuis le 20^{ème} siècle.

Les parasites endémiques

D'autres parasites sont typiques de certaines niches écologiques (en dehors de leur hôte). Les différentes espèces du genre *Schistosoma* (l'agent de la bilharziose, qui est toujours un enjeu de santé publique majeur en Égypte) en sont un exemple (Barakat, 2013).

Ce Trématode a été le premier agent pathogène à être identifié dans des échantillons anciens, à savoir des momies égyptiennes du 13^{ème} siècle avant notre ère (Ruffer, 1910). Il est régulièrement observé en Égypte ancienne (incluant le Nord-Soudan actuel) et montre l'ancienneté de ce fardeau infectieux dans cette région (**Figure 1**).

L'étude de momies égyptiennes a permis la détection à la fois de *S. Mansoni* et de *S. haematobium* par le biais de l'observation sous microscope, de tests immunologiques, et du séquençage d'ADNa. Deelder *et al.*, 1990 ont ainsi fourni le plus ancien cas connu en Égypte, daté d'environ 3200 ans avant notre ère. Comme l'ont relevé Miller *et al.* (1992) les fossiles d'hôtes intermédiaires du Schistosome ont été découverts sur des sites paléolithiques africains, ce qui tend de surcroît à indiquer que la schistosomiase pouvait circuler dans la région bien avant le 4^{ème} millénaire avant notre ère.

Les mêmes auteurs, grâce à un test ELISA, ont détecté une fréquence de 65% de la schistosomiase chez des momies du cimetière de NAX dans la région de Wadi Halfa et daté du 4^{ème} au 6^{ème} siècles de notre ère. Hibbs *et al.* (2011) ont comparé les deux populations archéologiques de deux cimetières de la même région, et ont montré que la fréquence de la schistosomiase à *S. mansoni* était significativement plus importante dans la population ayant pratiqué l'irrigation, mettant ainsi en avant les conséquences épidémiologiques pour les populations anciennes des modifications anthropiques de leur environnement. Matheson *et al.* (2014), ont détecté le plus ancien cas de schistosomiase à *S. Mansoni* à Riga en Égypte centrale et daté d'environ 1950 ans avant notre ère.

Le Schistosome a ponctuellement été détecté en dehors d'Égypte et de sa niche écologique attendue, à savoir dans la région de Montbéliard dans le Nord-Est de la France, sans que les conditions environnementales ne soient alors suffisantes pour y assurer l'implantation du

parasite. Cela a été interprété comme le signe d'une migration individuelle (Bouchet *et al.*, 2002). Similairement, les restes momifiés attribués au roi de France Saint-Louis (1270 de notre ère) ont été examinés en microscopie électronique et ont montré ce qui a été interprété comme des formes parasitaires attribuées à des Schistosomes mâles (Charlier *et al.*, 2016). Le roi pourrait avoir contracté la schistosomiase durant la 8^{ème} Croisade et pourrait illustrer le phénomène de rencontre hôte-pathogène inhabituel à la faveur de migrations et d'évènements militaires anciens. Néanmoins, ces résultats devraient être pris avec précaution en raison du manque de description morphologique complète associée à la publication d'origine. Cependant, les épidémies de Schistosomes causées par des migrations sont bien documentées de nos jours dans le Sud de la France (Boissier *et al.*, 2016) et la détection de ce Trématode chez le roi Saint-Louis ou toute personne ayant effectué ce genre de périple serait effectivement loin d'être insensée.

Le parasite a également été détecté en Syrie préhistorique. Bien que cette détection ne soit basée que sur l'observation d'un seul spécimen sous microscopie optique, une telle découverte serait cohérente avec les données moléculaires indiquant une origine asiatique de ce Trématode. Il a donc été proposé qu'il ait migré d'Est en Ouest à la faveur de l'avancée vers l'Occident de la pratique de l'irrigation (Anastasiou *et al.*, 2014).

La connaissance que nous avons de la radiation passée du Schistosome s'étendra probablement à l'avenir au fur et à mesure que des zones hors d'Égypte, et actuellement connues pour être des zones d'endémie de ce Trématode, comme le Maghreb, seront explorées par les paléoparasitologues. Il demeure néanmoins que la distribution du Schistosome dans le registre subfossile donne un exemple frappant d'infection endémique dans le passé.

Les parasites en dehors de leur zone d'endémie

Les organismes parasites peuvent être observés en dehors de leur zone de distribution habituelle. Cela est généralement le cas lors de migrations à longue distance ou de changements environnementaux. Comme il a été vu précédemment, des détections locales et ponctuelles peuvent attester de ce phénomène. Mais des flux migratoires plus importants peuvent exporter des parasites à plus large échelle, comme cela a été interprété concernant la présence du Bothriocéphale au Levant à l'époque médiévale (Mitchell *et al.*, 2011 ; Yeh *et al.*, 2015).

En effet, ce parasite semble particulièrement bien adapté aux latitudes septentrionales où il infecte les mammifères ichtyophages dont les humains. En dehors du bassin méditerranéen, la plupart de ses occurrences proviennent du nord de l'arc alpin : France, Allemagne et Suisse (Le Bailly and Bouchet, 2013). Plus récemment, il a également été documenté en Irlande et en Sibérie (Perri *et al.*, 2018 ; Sleptchenko *et al.*, 2019a, 2019b). Cependant, il ne semble pas possible d'ignorer la présence de ce parasite en Israël durant la période Antique, à Baet Shean et Caesariae (Harter, 2003), et d'attribuer les occurrences médiévales à un événement migratoire Ouest-Est à la faveur des Croisades. De plus, la détection d'œufs de *Diphyllobothriidae* n'appartenant pas à l'espèce *D. latum*, sur le site néolithique de Shillourokambos à Chypre, pointe vers une circulation ancienne de ce parasite dans les communautés humaines de Méditerranée orientale, et ce dès l'époque de la colonisation de ses grandes îles. Plus récemment, la détection du Bothriocéphale en Méditerranée a été étendue vers l'Ouest, sur le site néolithique de La Draga, en Espagne (Maicher *et al.*, 2017). Enfin, ce parasite a été observé en Israël au 18^{ème} siècle (Eskew *et al.*, 2019). Il devient de

plus en plus probable que l'aire de circulation du Bothriocéphale était par le passé bien plus étendue qu'il n'était supposé jusqu'à présent (Figure 1).

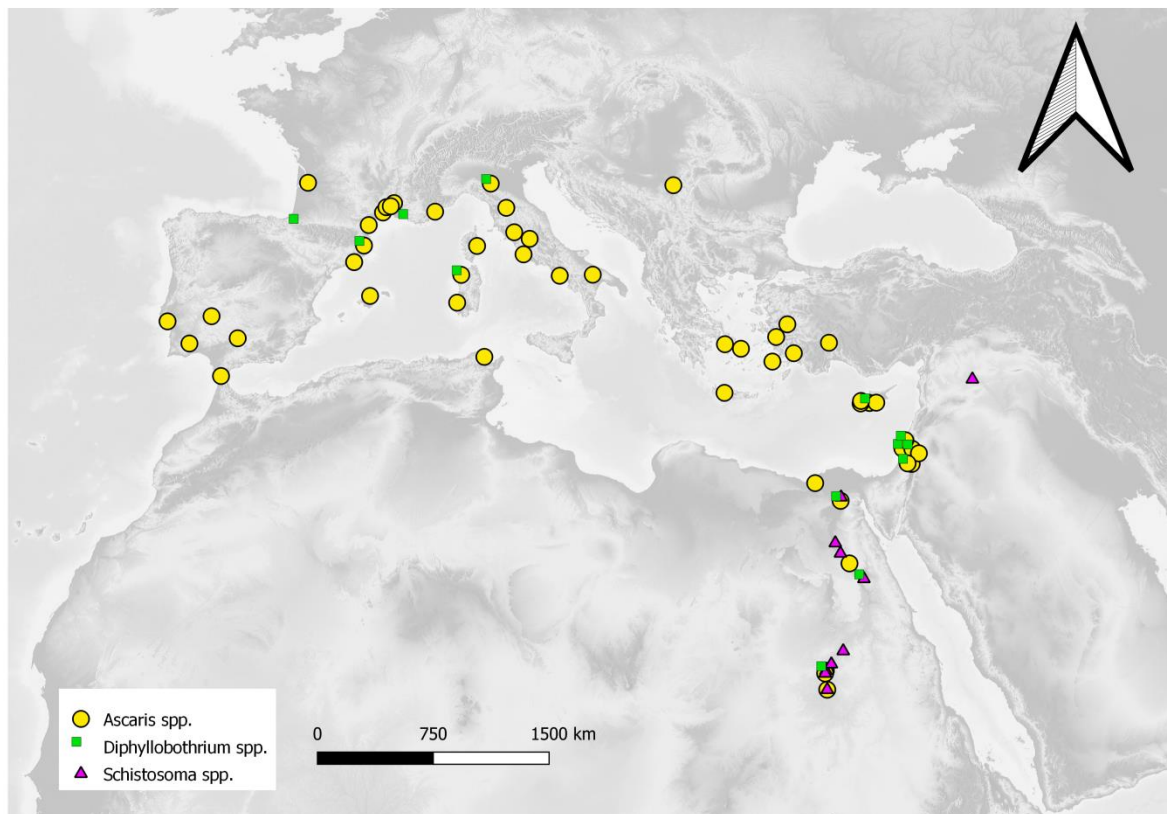


Figure 1 Distribution de trois genres d'helminthes autour du bassin méditerranéen dans le registre subfossile holocène. L'*Ascaris* (ronds jaunes) apparaît comme très ubiquiste, conformément à son écologie actuelle. Le bothriocéphale (carrés verts décentrés), connu pour sa localisation au nord de l'arc alpin de nos jours apparaît largement répandu en Méditerranée depuis le Néolithique, notamment en Crète et sur la côte levantine. Le schistosome (triangles violets) témoigne enfin d'une situation typique d'endémie en zone chaude et humide par sa présence marquée dans la vallée du Nil depuis le 4^{ème} millénaire avant notre ère.

De manière notable, le cas du Bothriocéphale fait écho à celui du bacille de Hansen. Il a en effet été suggéré par le passé que les croisés avaient ramené ce dernier depuis la Terre Sainte avec la maladie éponyme. Cependant, la lèpre circulait déjà en Europe à cette époque ainsi qu'en attestent de manière convergente les registres historique, archéologique, et paléopathologique (Mitchell, 2002 ; Nerlich and Zink, 2008). Plus récemment, l'identification du sous-type 3K de *M. leprae* en Angleterre entre les 10^{ème} et 12^{ème} siècles, ont conduit les auteurs de cette observation à y voir le signe effectif d'une importation depuis le Proche-Orient et l'Europe du Sud (Kerudin *et al.*, 2019). Cela illustre à nouveau le rôle important des migrations humaines dans la radiation des agents infectieux et des parasites ou de leurs différentes souches, notamment dans le contexte historique des Croisades.

Repères chronologiques du registre méditerranéen

Les sites archéologiques sur lesquels ont été détectés des helminthes ont été classés en 6 grandes périodes historiques : Néolithique, Âge du Bronze, Âge du Fer, Antiquité, Moyen-

Âge, époque Moderne, 19^{ème} siècle. Il est à noter que ces partitions traditionnelles des sciences historiques sont des conventions ayant peu à voir avec les changements environnementaux dans lesquels elles s'insèrent et retiennent bien souvent des dates arbitraires de début et de fin. Elles permettent néanmoins d'évaluer la distribution chronologique des sites étudiés (**Figure 2**).

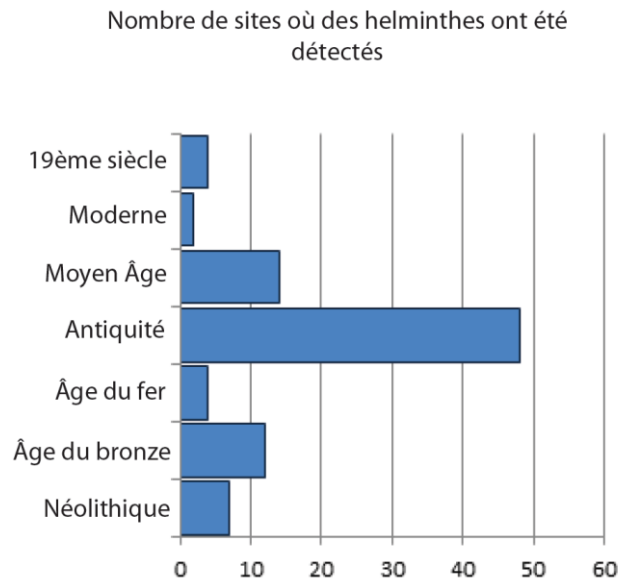


Figure 2 Distribution chronologique des sites archéologiques ayant livré des helminthes dans la zone méditerranéenne. Les datations absolues, lorsqu'elles sont connues, sont consultables dans l'Annexe 1 de ce manuscrit pour chaque site inclu. Ceux-ci ont été ventilés dans ce graphique en suivant les chronologies régionales indiquées par Broodbank, 2013. Tous les sites s'étendant de l'époque archaïque jusqu'à l'époque tardo-antique ont été inclus sous l'étiquette « Antiquité ». Les dates de 476 et 1492 ont été retenues pour marquer la fin des périodes antique et médiévale.

Quelques sites du Néolithique ont été étudiés (n=7). Parmi les études les plus étendues, il est possible de citer le site de La Draga, en Espagne (Côté *et al.*, 2016 ; Maicher *et al.*, 2017). La Draga a livré une large diversité parasitaire incluant des parasites d'origine alimentaire ainsi que d'origine fécale dans cette communauté humaine du 6^{ème} millénaire avant notre ère. Plus récemment, Ledger *et al.* (2019), ont documenté la présence de *Trichuris trichiura*, une parasitose d'origine fécale, à Çatalhöyük en Turquie, au 7^{ème} millénaire avant notre ère. Mitchell *et al.* (2018), ont fait la même observation sur le site de Kephala sur l'île de Kéa dans les Cyclades, pour le 4^{ème} millénaire avant notre ère. Toutes ces observations présentent de manière démonstrative que les communautés humaines de Méditerranée tendaient à être infectées, notamment par des parasitoses d'origine fécale, bien avant la mise en place des très grands centres urbains de l'époque classique à l'époque romaine. Néanmoins, plus d'études seront nécessaires afin de pouvoir avoir une meilleure compréhension de la transition épidémiologique au tournant de l'urbanisation au regard du fardeau parasitaire connu par ces différentes communautés (**Figure 3**).

Les sites de l'Âge du Bronze (n=12) et de l'Âge du Fer (n=4) ont livré *Ascaris* sp., *Trichuris* sp., *S. stercoralis*, *Syphacia obvelata*, *Hymenolepis* sp., *Schistosoma* sp., *Filaria*, *D. medinensis*, *T. spiralis*, *Fasciola* sp., *Diphyllobothrium* sp., mais aussi des œufs appartenant aux groupes des Fasciolidés et Paramphistomatidés, Anoplocephalidés, Taeniidés, et

Acantocephales. Le grand nombre de détections du schistosome à cette période (alors qu'il n'avait été détecté qu'une seule fois auparavant sur le site néolithique de Tell Zeidan), s'explique par le tropisme égyptien des analyses effectuées, assez souvent opérée dans la vallée du Nil, où la schistosomiase est endémique. Il en va de même des filarioses qui apparaissent nombreuses à ce moment-là, du fait du grand nombre de momies étudiées, permettant l'observation de tissus préservés, notamment cutanés. La détermination spécifique de certains spécimens observés est généralement rendue impossible lorsque ceux-ci sont extraits d'échantillons à l'origine biologique incertaine, comme des coprolithes sur le site de Hiérakonpolis (**Figure 3**).

La pathocénose parasitaire observée, qui concerne essentiellement des villes gréco-romaines de différentes importances, est dominée par une minorité d'espèces associées au péril fécal, soit la pollution de la nourriture, de l'eau de boisson, et de l'environnement par des excréments humains dans des zones densément peuplées, et ce sans nécessiter la présence d'hôtes animaux non humains pour jouer le rôle de réservoirs de parasites ou de vecteurs dans l'environnement. Un tel fardeau parasitaire est systématiquement observé dans ce contexte historique, aussi bien dans les établissements continentaux qu'insulaires, depuis Baelo Claudia en Espagne jusqu'au Levant (Baet Shean, Caesariae), en passant par les Baléares (Pollentia) et l'Égée (Délös, Kardamaina). Ces observations suggèrent une efficacité pour le moins sub-optimale des standards d'hygiène publique développés dans ce contexte chrono-culturel (latrines, égouts, bains...) sur le fardeau parasitaire connu par ces populations. La fiabilité et la pertinence de telles observations ont récemment été discutées (Mulder, 2017; Roche *et al.*, 2022). Les chapitres suivants reviendront plus en détails sur ce point au travers de l'étude exhaustive des latrines de la ville gréco-romaine de Délös dans les Cyclades, et de la population archéologique romaine de Florence en Italie. Globalement, *Ascaris* sp., *Trichuris* sp., *E. vermicularis*, *Toxocara* sp., *Capillaria* sp., *Dicrocoelium* sp., *Fasciola* sp., *Paramphistomum* sp., *Schistosoma* sp., *Diphyllbothrium* sp., *Taenia* sp., *Macracanthorhynchus* sp., ont été détectés dans ce registre (**Figure 3**).

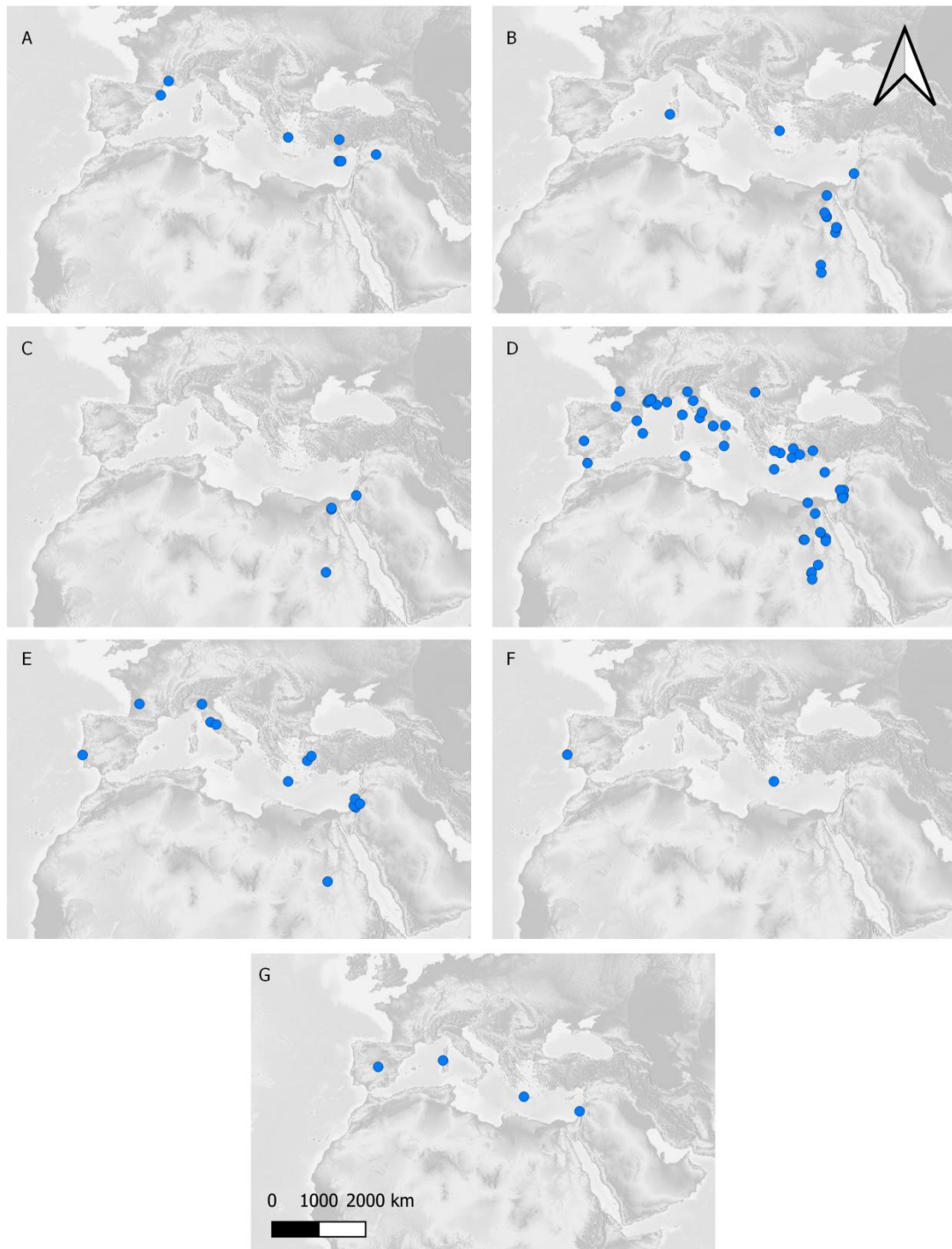


Figure 3 Distribution des sites archéologiques holocènes ayant livré des helminthes. A) Néolithique ; B) Âge du Bronze ; C) Âge du Fer ; D) Antiquité ; E) Moyen-Âge ; F) époque Moderne ; G) 19ème siècle.

Ces parasitoses cosmopolites étaient sans aucun doute des leviers dramatiques d'infections aiguës à microparasites tel *M. tuberculosis* dont il a été montré l'état d'endémie en Égypte depuis la période pré-dynastique au moins (Zink *et al.*, 2003b). De surcroît, les co-infections étaient probablement très communes comme cela a été montré du paludisme et de la tuberculose chez plusieurs momies égyptiennes de la 3^{ème} Période Intermédiaire à l'époque romaine dans la nécropole d'Abusir el Meleq (Lalremruata *et al.*, 2013). Le polyparasitisme concerne également les helminthiases, et a, par exemple, pu être mis en évidence chez la momie Nakht-ROM I de Deir el-Bahri, chez qui des œufs de Schistosomes et de Ténias ont été observés sous microscopie optique et électronique dans différents tissus, et la schistosomiase confirmée par test ELISA (Reynam *et al.*, 1977 ; Horne et Lewin, 1977 ; Deelder *et al.*, 1990).

La période médiévale est la deuxième ayant livré le plus grand nombre de sites (n=14). Ceux-ci ont donné lieu à l'observation d'*Ascaris* sp., *Trichuris* sp., *Capillaria* sp., Strongyle-type eggs, *Taenia* sp., *Fasciola* sp., *Diphyllobothrium* sp., *Dicrocoelium* sp., *Schistosoma* sp. (**Figure 3**).

Les périodes Moderne et Contemporaine ont livré étonnement peu de sites (n=2 et n=4 respectivement). On a pu y observer *Ascaris* sp., *Trichuris* sp., des œufs de type Strongyle, *Toxocara* sp., *Capillaria* sp., *Paramphistomum* sp., *Dicrocoelium* sp., *Diphyllobothrium* sp., *Taenia* sp. (**Figure 3**). Paradoxalement, ces périodes sont pourtant de première importance pour une compréhension non spéculative de la transition épidémiologique connue par l'Occident au tournant de l'industrialisation. Des études sur ces périodes ont récemment été entreprises pour d'autres zones géographiques, notamment la Sibérie et l'Asie du Sud Est (Slepchenko *et al.*, 2019; Zhan *et al.*, 2019).

En dépit d'une homogénéité écologique apparente de nos jours, il ne devrait pas être oublié cependant, que les paléoclimats et environnements méditerranéens ont grandement variés depuis le début de l'Holocène. En dehors des grandes partitions de la période en elle-même, succédant au dernier maximum glaciaire (ancien : 12000-6200 ans avant notre ère ; moyen : 6200-3000 avant notre ère ; récent : -3000 jusqu'à nos jours), il faut ajouter les grandes variations européennes (préboréale, boréale, atlantique, sub-boréale, sub-atlantique) (Brooke, 2018). L'espace méditerranéen en tant que tel ne fait qu'ajouter aux sous-partitions temporelles et régionales. Ainsi, après la transition de l'Holocène moyen, il y a 4200 ans, qui voit la bascule d'un climat global alors chaud et humide depuis plusieurs millénaires, il faut dès lors compter sur un environnement soudainement plus sec. Mais c'est encore sans compter sur les variations subséquentes, notamment l'Optimum Climatique de l'Âge du Bronze (OAB, -1500 à -1000 avant notre ère), l'Âge Glaciaire du Fer (AGF, de 900 à 400 avant notre ère), l'Optimum Climatique Romain (ou OCR, de -200 à 200 de notre ère), l'Anomalie Climatique Médiévale (950-1300), ou encore le Petit Âge Glaciaire (1300-1860), pour ne citer que les plus récentes, et ce sans mentionner le Réchauffement Climatique Anthropique observé depuis les années 1900-1910 jusqu'à nos jours (Horden, 2018; Valette, 2021). Les températures globales et les degrés de précipitations ont ainsi très significativement varié ces 12000 dernières années. Il reste pourtant extrêmement précaire, au moins dans cet espace méditerranéen, d'établir des liens de causalité fermes entre variations climatiques globales et événements macro historiques (Horden, 2018 ; Haldon *et al.*, 2018a). Cela est également vrai en ce qui concerne les maladies infectieuses (Haldon *et al.*, 2018b ; Haldon *et al.*, 2018c). En effet, s'il est admis que le climat méditerranéen caractérisé par des

étés chauds et secs et des hivers froids et humides parallèlement à la désertification du Sahara était en place à la fin du 3^{ème} millénaire avant notre ère, ou que l'OCR a marqué la période la plus humide de ces 4000 dernières années, beaucoup de données d'une région à l'autre restent hautement contradictoires ou basées sur des extrapolations à partir de régions adjacentes. Il en va ainsi par exemple de la méditerranée orientale, où les données collectées en Turquie laissent significativement apparaître un climat sec persistant de plusieurs siècles alors même que la méditerranée occidentale se trouve en plein Optimum Climatique Romain (Horden, 2018). La complexité de ces cycles et leurs variations régionales et locales pèsent certainement sur la distribution et la fréquence de la faune parasitaire connue par les communautés anciennes ayant peuplé le bassin méditerranéen au cours du temps. Cela apparaît d'autant plus probable considérant que nombre d'espèces dont il sera question ici, dépendent pour leur cycle biologique d'une phase développementale dans le milieu extérieur et dont la poursuite est notamment conditionnée par des stimuli environnementaux.

Paléoparasitologie et biogéographie

La majorité des sites archéologiques, phases chronologiques ou assemblages de momies naturelles ou artificielles pris en compte dans cette revue proviennent d'environnements continentaux (n=92), alors qu'une minorité de sites concerne des environnements insulaires (n=17). Il faut souligner que certaines localités peuvent avoir été comptées deux fois si deux phases d'occupation bien distinctes y ont été étudiées, mais un autre mode de comptabilisation ne renverserait pas sensiblement les proportions relatives des deux types de contextes.

Le nombre total de genres ou de morphotypes d'helminthes identifiés jusqu'à maintenant s'élève à 28 dans l'ensemble des sites continentaux, alors qu'il s'élève à 11 dans l'ensemble des sites insulaires. Dans les deux cas, les Nématodes représentent la classe la plus communément observée, représentant respectivement 46% et 54,5% de la richesse générique/morphotypique observée sur les sites continentaux et les sites insulaires. Dans les deux cas toujours, l'*Ascaris* et le *Trichuris* sont les deux taxons les plus fréquemment enregistrés. Des contextes généralement très anthropiques font souvent interpréter ces spécimens par leurs observateurs comme appartenant aux espèces *A. lumbricoides* et *T. trichiura*, infestant les primates, et notamment les humains.

Sur les sites continentaux, les Trématodes représentent le deuxième groupe de parasites le plus communément observé (25% de la richesse générique/morphotypique), suivis des Cestodes (21%) et des Acanthocéphales (7%). En milieu insulaire, ces proportions sont respectivement de 18%, 18% et 9%. Cette différence dans la proportion relative des classes d'helminthes observées entre les contextes continentaux et insulaires anciens pourrait être expliquée au moins en partie par l'écologie parasitaire. Les Nématodes sont effectivement des taxons généralement ubiquistes à cycle biologique direct, plus aisément implantés dans les écosystèmes insulaires comparativement aux Plathelminthes nécessitant un spectre d'hôtes plus étendu pour leurs cycles de développement indirects et plus difficilement soutenables dans des milieux insulaires à la diversité d'hôtes réduite. Dès lors, on peut effectivement s'attendre à observer une proportion plus importante de Nématodes en contexte insulaire qu'elle ne l'est en contexte continental, et une proportion plus importante de Trématodes en contexte continental qu'elle ne l'est en contexte insulaire. Encore une fois, les contextes étudiés, majoritairement anthropiques, expliquent certainement la faible proportion

d'Acanthocéphales dans ce registre. En effet, ces vers infestent rarement l'espèce humaine, et sont classiquement observés sur les sites ou dans les structures particulièrement souillées de déjections animales non humaines (zones de fréquentation naturelles ou dépotoirs par exemple), comme sur les sites de La Draga en Espagne ou d'Asi Gonia en Crète (Maicher *et al.*, 2017 ; Roche *et al.*, 2020).

De fait, le registre paléoparasitologique en Méditerranée semble cohérent avec les principes basiques de l'écologie parasitaire. La richesse géographique et animale, réduites en milieu insulaire, pourraient avoir limité la richesse des espèces parasitaires, comme cela avait déjà été suggéré par Anastasiou *et al.* (2017). Une telle situation renvoie à l'équilibre de la théorie de la biogéographie insulaire (MacArthur et Wilson, 1967) dont Jean *et al.* (2016) ont montré la pertinence dans le cas des parasites et autres pathogènes humains, notamment des helminthes. Dans leur étude, les auteurs ont montré que la distance depuis le continent le plus proche (corrélée négativement à la richesse spécifique dans le modèle initial), n'était pas aussi importante pour la richesse spécifique des pathogènes qu'elle ne l'était pour les espèces libres. Ils suggèrent que les migrations humaines (emportant avec elles leurs parasites), ont été responsables de ce phénomène au fur et à mesure des innovations technologiques qui facilitaient le transport maritime et diminuaient virtuellement la distance entre une île et le continent le plus proche. De manière intéressante, la paléoparasitologie pourrait explorer cette problématique à l'avenir en étudiant systématiquement la richesse parasitaire observée au cours du temps dans les communautés insulaires anciennes comparativement à leurs contemporaines continentales.

Matériels et méthodes mis en œuvre dans le registre paléoparasitologique

Une certaine diversité méthodologique peut être observée dans le registre paléoparasitologique en fonction du nombre d'échantillons étudiés par site, du type d'échantillon, de leur origine archéologique ou des méthodes diagnostiques employées. Dans la majorité des cas, les parasites ont été détectés dans des échantillons de sédiment souillés de matières fécales, ou de « restes organiques », le plus probablement des résidus fécaux, comme dans la thèse de Stéphanie Harter (2003). Les paléofèces ou « coprolithes » individuels ont également été étudiés (par exemple Nezamabadi, 2014 ; Yeh *et al.*, 2015). Il devrait être souligné que le terme « coprolithe » est communément employé dans la littérature archéologique, paléoparasitologique et paléomicrobiologique alors qu'en de tels contextes holocènes, ils ne peuvent probablement pas décrire des fèces intégralement lithifiées comme l'étymologie du terme le suggère.

Le nombre important de momies naturelles ou artificielles découvertes en Égypte, au Soudan et à Chypre, ont par ailleurs offert l'opportunité d'étudier différents types de tissus humains, notamment rénaux (Ruffer, 1910), intestinaux (Horne et Levin, 1977), cutanés (Horne et Redford, 1995), ou musculaires (Bellard et Cortès, 1990).

De façon surprenante, les sédiments collectés dans des sépultures aux restes entièrement squelettiques n'ont pas été étudiés de manière très extensive, avec de rares mentions comme Sianto *et al.* (2016), ou Anastasiou *et al.* (2017). Pourtant, ce genre d'études systématiques en contexte funéraire pourrait conduire à une meilleure approximation du fardeau parasitaire et de ses dynamiques au sein des populations anciennes à travers le temps ainsi que déjà suggéré (Roche *et al.*, 2019) et appliqué sur des collections de restes momifiés (Hibbs *et al.*, 2011).

A l'exception des restes momifiés, la plupart des restes observés provient de latrines, toilettes, fosses septiques ou égouts associés (par exemple Ledger *et al.*, 2018 ; Eskew *et al.*, 2019). D'autres contextes archéologiques ont pu être étudiés en de plus rares occasions, notamment des niveaux d'occupation (par exemple Maicher *et al.*, 2017), puits (Dufour, 2015), et fosses (Florenzano *et al.*, 2012).

La grande majorité des diagnostics repose sur l'observation d'œufs d'helminthes sous microscope optique. Cependant, la disponibilité d'un grand nombre de momies dans le contexte méditerranéen, principalement égyptiennes, a également offert l'opportunité d'observer des vers adultes directement dans des organes infestés.

L'importance des preuves photographiques, de descriptions morphologiques et de diagnostics comparés, est parfois mise en avant, notamment dans le cas de détections microscopiques (par exemple Camacho et Reinhard, 2019). La même observation pourrait être faite concernant les vers adultes exceptionnellement préservés dans des organes momifiés. De tels cas, rares en dépit du nombre de momies étudiées, manquent parfois de descriptions anatomiques et taphonomiques (Charlier *et al.*, 2016), ou alors, l'absence de preuves photographiques et de descriptions préviennent toute discussion plus approfondie de ces observations de la part de la communauté des paléoparasitologues.

Le nombre d'échantillons étudiés par site ou phase chronologique varie également beaucoup, du diagnostic ponctuel en contexte de latrines (par exemple Anastasiou et Mitchell, 2013) au diagnostic exhaustif couvrant de larges niveaux d'occupation (Maicher *et al.*, 2017 ; 2019) ou populations archéologiques (Hibbs *et al.*, 2011).

Plusieurs méthodes diagnostiques ont été employées dans la constitution du registre paléoparasitologique en Méditerranée. Dans la majorité des cas, celui-ci était basé sur l'analyse en microscopie optique de sédiments ou de résidus fécaux. En de rares mais notables occasions, la recherche d'ADN ancien a également été combinée à la microscopie (Côté *et al.*, 2016 ; Sjøe *et al.*, 2018). D'autres méthodes incluent le test ELISA (Deelder *et al.*, 1990 ; Hibbs *et al.*, 2011), l'examen histologique de tissus momifiés (Ruffer, 1910 ; Bellard et Cortès, 1990), l'examen macroscopique de kystes calcifiés ou de lésions kystiques (Zias et Mumcuoglu, 1991 ; Bruschi *et al.*, 2006), la coloration immunohistochimique (Bruschi *et al.*, 2006), l'immunofluorescence (Le Bailly *et al.*, 2008) et la radiologie (Isherwood *et al.*, 1979).

La microscopie optique sur sédiments ou résidus fécaux domine donc ce registre mais est diversement pratiquée. Ces méthodes suivent globalement les principes de la réhydratation de tissus biologiques anciens initiée par Callen et Cameron (1960) mais leur application peut varier d'un laboratoire à l'autre, notamment dans les temps de réhydratation ou dans les réactifs utilisés. Par exemple, Anastasiou et Mitchell (2013a) ont réhydraté leur échantillon pendant 72h dans une solution de phosphate trisodique (TSP) à 0,5 % alors que Maicher *et al.* (2017) ont réhydraté leurs échantillons durant une semaine en solution de TSP et de glycérol à 5 % (protocole RHM). Après réhydratation, Anastasiou et Mitchell ont exposé l'échantillon tamisé en solution d'acide hydrochlorique (HCl) à 30%. Dufour et Le Bailly (2013) ont montré quant à eux que le HCl tend à réduire notablement la concentration de restes végétaux et minéraux nuisant au diagnostic microscopique, mais qu'il pouvait également réduire la diversité parasitaire et déformer les œufs observés dans l'échantillon. Anastasiou et Mitchell (2013b) ont également montré que l'usage de TSP ou la variation dans le temps de réhydratation (d'une heure à 72h) pourrait avoir peu voire pas d'impact sur la diversité

parasitaire observée suggérant une simplification du protocole d'extraction. Il faut néanmoins souligner que la nature sableuse des échantillons testés pourrait avoir biaisé l'analyse en ce sens.

Lorsque les techniques de biologie moléculaire et la microscopie optique ont été employées communément, cela a sensiblement augmenté la diversité parasitaire alors détectée. Ce point est particulièrement notable dans le cas de taxons rarement observés sous microscope comme *Parascaris univalens* (Søe *et al.*, 2018) ou *Enterobius vermicularis* (Côté *et al.*, 2016). La combinaison de l'approche classique (microscopie optique) et moléculaire (ADN ancien mais également immunologique comme dans Eskew *et al.*, 2019), conduit donc à une plus grande diversité d'observations et à des diagnostics plus précis (Côté et Le Bailly, 2018), et devrait être conduite de manière routinière en paléoparasitologie à l'avenir.

Ce que cette revue ne dit pas

De nombreuses sources d'informations participent à la connaissance des maladies infectieuses dans le passé. En dehors des observations directes de pathogènes parasitaires ou autres, une telle discipline ne peut en effet pas ignorer les sources historiques, archéologiques, et bio-anthropologiques. Chaque type de données possède ses propres avantages et inconvénients, et chacun peut être subdivisé en différents types de matériaux sources. Cela peut être illustré par quelques exemples.

Ainsi, les sources historiques au travers des récits de chroniqueurs et historiens peuvent être utilisées afin d'étudier la réaction des sociétés, et notamment des autorités, face à un événement épidémique ou à la gestion d'une crise sanitaire. Bertrand (2018) a ainsi mis en lumière la gestion des premières vagues de peste au 6^{ème} siècle de notre ère par le pape Grégoire 1^{er} à Rome et l'empereur Justinien à Byzance. Huldén et collègues (2005) ont quant à eux utilisé les registres paroissiaux du 19^{ème} siècle dans le nord de l'Europe afin d'y observer la mortalité attribuée au paludisme et de confronter ces données aux variations de températures à long terme dans la région et d'évaluer l'impact de celles-ci sur le maintien de cette parasitose à de hautes latitudes dans le passé récent. À la croisée des sources textuelles et archéologiques, Scheidel (2009) a comparé les dates de décès inscrites en contexte funéraire à Rome de la période républicaine tardive au Bas-empire de sorte à en inférer les taux de mortalité saisonnière à travers la période et certainement associée au paludisme endémique. Les sources archéologiques, non écrites et non biologiques, sont également de première importance. On peut ainsi relever l'apparition et l'expansion des léproseries en Europe de l'Ouest depuis le 3^{ème} siècle de notre ère jusqu'au Moyen-Âge (Nerlich et Zink, 2008). Enfin, les restes humains, qu'ils soient squelettiques ou momifiés, sont également de première importance dans la détection des manifestations physiques d'infections par ailleurs détectées dans les populations archéologiques correspondantes. En somme, et bien que ce chapitre se soit concentré sur la détection directe de pathogènes anciens, l'étude des infections à travers le temps est nécessairement intégrative et requiert la participation d'une diversité certaine de spécialistes de différents champs scientifiques.

Conclusion

Les données concernant les relations humains-pathogènes dans le passé dans le bassin méditerranéen ne sont pas rares. Au contraire et depuis la toute première observation par le microbiologiste Marc Armand Ruffer en 1910 (Ruffer, 1910), une quantité croissante d'informations permet de mieux en mieux retracer cette relation de long terme d'un point de

vu évolutif, écologique et historique (Cascardo *et al.*, 2017 ; Dutour, 2013 ; Mitchell, 2013). Les agents principaux d'infections humaines actuellement connues (comme le paludisme, la schistosomiase ou la tuberculose) ont largement été documentés et ont montré leur ancienneté.

Si les données ne manquent pas concernant l'Antiquité et le Moyen Âge, une étude plus systématique d'échantillons médicaux récents, des 19^{ème} et 20^{ème} siècles, pourrait être d'un très grand intérêt dans la compréhension de l'écologie actuelle des infections, et moins dépendante des différents biais détaillés précédemment et concernant des échantillons d'époques plus anciennes. D'un autre côté, la transition néolithique ne peut pas être clairement comprise dans une approche épidémiologique non spéculative si trop peu de données viennent alimenter cette période. De surcroît, de larges aires chrono-géographiques restent à explorer, notamment de nombreuses îles, les côtes de l'Adriatique ou le Maghreb. Une meilleure exploration de ces régions pourrait notamment permettre de tester la distribution géographique des espèces observées contre le développement des activités et migrations humaines à travers le bassin méditerranéen, notamment à l'aune du développement de la navigation.

Les informations dégagées ont néanmoins permis d'explorer dans leurs grandes largeurs les conditions environnementales, génétiques et culturelles ayant contribué à l'émergence, la réémergence, l'évanescence, voire la pathogénicité changeante de différents pathogènes au cours du temps. Il est possible de citer en cela le rôle des migrations anciennes dans le transport et l'implantation d'une parasitose d'une région à une autre. Par ailleurs, la multiplication des analyses paléogénétiques devrait permettre à l'avenir une meilleure compréhension de l'évolution des pathogènes actuels et de leur diversité passée au travers de la détection de souches éteintes ou dont les restes microscopiques ne se conservent pas. Similairement, la systématisation des recherches en contexte funéraire devrait permettre une meilleure compréhension des dynamiques infectieuses passées notablement dans le champ de la paléoparasitologie au sens strict. Enfin, l'étude et la compréhension des maladies infectieuses du passé à l'actuel doit nécessairement être une démarche intégrative à laquelle de nombreux champs disciplinaires ont à participer.

La partie II de ce manuscrit (ci-après) détaille les protocoles d'analyses employés pour les sites étudiés spécifiquement au cours de ce travail de thèse, mais ces sites en eux mêmes, leurs résultats et leurs interprétations sont présentés dans la partie III et IV auxquelles il est possible de sauter directement. Les différents chapitres de ces parties entendront contribuer plus en détails à la compréhension du parasitisme dont les grandes lignes ont été brossées *supra*. Il s'agira d'abord de l'étude exhaustive des latrines d'une cité d'époque hellénistique (Délès), de l'étude exploratoire d'une population archéologique d'époque romaine (Florence), et d'un contexte paléo-environnemental *hors-site* dont la stratigraphie s'étend de l'époque romaine à l'actuel (Asi Gonia). Ces différentes études de cas permettront d'approfondir plusieurs problématiques, notamment de contribuer plus en détail aux discussions concernant l'état sanitaire des populations gréco-romaines, mais également de développer plusieurs voies nouvelles pour la discipline, notamment la systématisation de l'approche paléogénétique et l'ouverture vers la phylogénie moléculaire et les sciences de l'évolution à proprement parler, ainsi que la contribution de la paléoparasitologie aux études paléo-écologiques.

PARTIE II : Matériels et méthodes

Chapitre 1 : Les sites étudiés

Distribution chrono-géographique

Les sites étudiés spécifiquement pour ce travail de thèse sont localisés sur le pourtour Méditerranéen, en particulier la Mer Egée, et concernent dans leur majorité l'époque gréco-romaine. Sept sites se trouvent ainsi en Mer Egée, la plupart en Grèce (Délös, Rhénée, Dhaskalio, Kardamaina, l'Anavlochos, et Asi Gonía), et un se trouve en Turquie (Labraunda). Cinq sites se trouvent en Mer Tyrrhénienne, dont trois en Italie (Pompéi, Florence, La Biagiola), un en France (Mare Stagno), et un en Tunisie (Utique). Deux sites espagnols, Pollentia et Baelo Claudia se trouvent respectivement aux Baléares et en Mer d'Alboran (Figure 4).

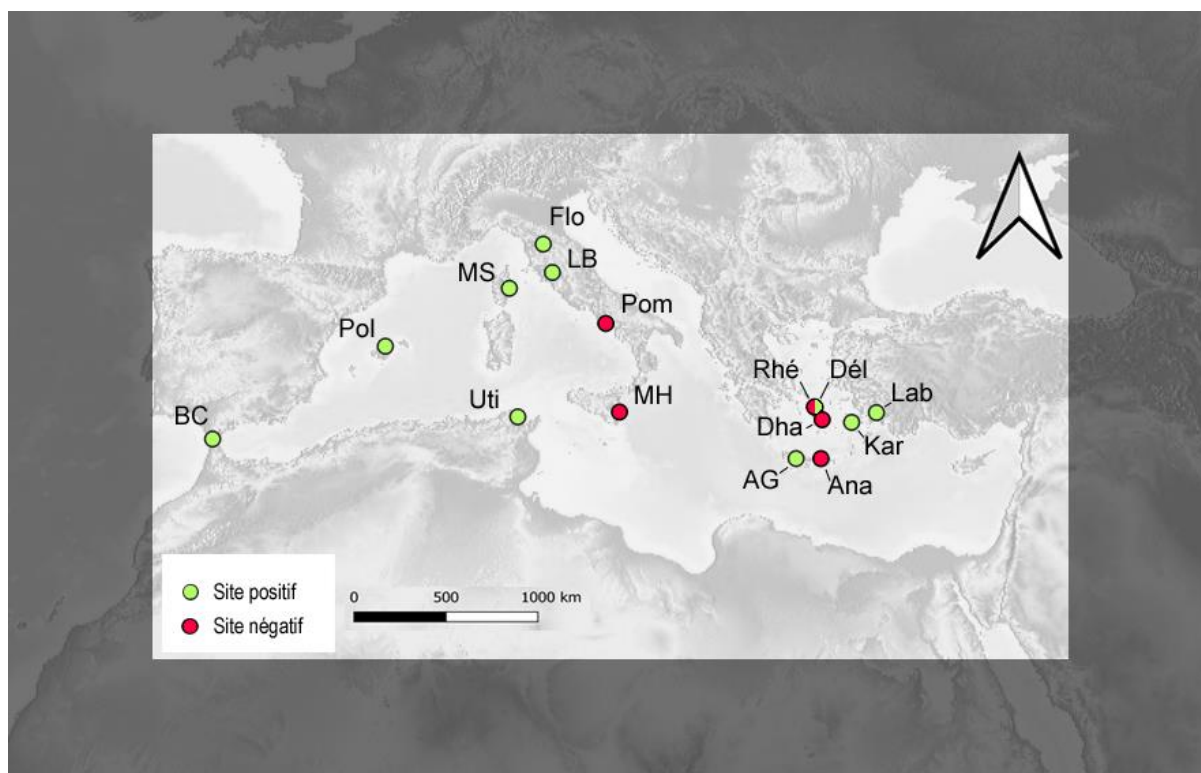


Figure 4 Les sites étudiés spécifiquement dans ce corpus. BC : Baelo Claudia ; Pol : Pollentia ; MS : Mare Stagno ; Uti : Utique ; Flo : galerie des Offices à Florence ; LB : La Biagiola ; Pom : Pompeii ; MH : Megara Hyblaea ; Rhé : Rhénée ; Dél : Délös ; Dha : Dhaskalio ; AG : Asi Gonía ; Ana : Anavlochos ; Kar : Kardamaina ; Lab : Labraunda.

Sur l'ensemble des sites étudiés, dix d'entre eux sont des sites côtiers, et 5 sont situés à l'intérieur des terres. Six sites sont continentaux, et neuf sont insulaires.

Datation

La datation chronologique de certains sites s'éloigne du corpus général globalement d'époque romaine, notamment les sites de Dhaskalio et de l'Anavlochos datés du Bronze ancien et moyen, le site de La Biagiola daté de l'époque lombarde, et le site d'Asi Gonía dont la stratigraphie s'étend sans interruption depuis l'époque romaine jusqu'à l'époque actuelle (Figure 5).

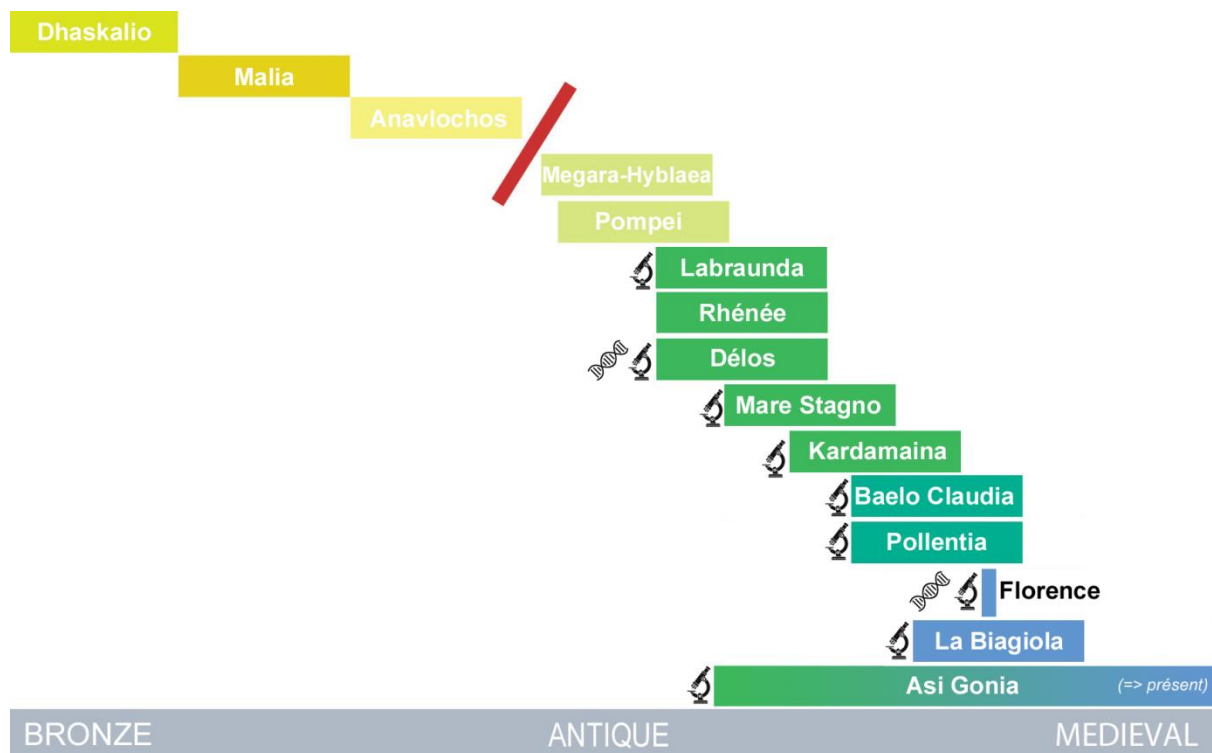


Figure 5 Chronologie relative des sites étudiés. Les icônes noires indiquent respectivement si des résultats ont été obtenus en microscopie ou en paléogénétique.

Contextes archéologiques

La majorité des sites étudiés concernent des milieux urbains (neuf sites), ainsi que des contextes funéraires (quatre sites). Deux sites ruraux ont également fait l'objet de prélèvements, et un contexte environnemental, à savoir la tourbière d'Asi Gonia. Les contextes funéraires sont parfois directement liés à un contexte urbain ou rural adossé, ou au contraire peuvent avoir été étudiés seuls. Ainsi, les sépultures de la ferme lombarde de *La Biagiola* en Italie ont fait l'objet de prélèvements ainsi que les installations de la ferme associée à l'espace funéraire, alors que sur le site de la Galerie des Offices, seules les sépultures du cimetière de masse ont été étudiées, sans échantillons associés provenant de la zone urbaine de *Florentia*. Le site funéraire hellénistique de l'île de Rhénée est lui bel et bien associé à la ville de Délos située sur l'île éponyme.

Seuls les sites ayant donné des résultats en paléoparasitologie seront présentés ci-après (excluant les sites de Dhaskalio, Rhénée, l'Anavlochos, Megara Hyblaea et Pompéi). Par ailleurs, les sites de Délos, Florence et Asi Gonia font l'objet de chapitres qui leur sont individuellement consacrés dans la suite de ce manuscrit (Figure 6).



Figure 6 Cartographie r egionale des sites positifs. A : les sites du pourtour de la Mer Tyrrh enienne ; B : des Bal eares et de la Mer d'Alboran ; C : du pourtour de la Mer Eg ee.

Site	Nbr échantillons	Nbr échantillons positifs	Nbr de taxons	Période	Contexte	Zone (mer)	Pays	Géographie	Localisation
Délos	113	58	5	Hellénistique - romaine	urbain	Egée	Grèce	Insulaire	Rivage
Rhénée	2	0	0	Hellénistique	sépultures	Egée	Grèce	Insulaire	Rivage
Dhaskalio	23	0	0	Bronze	urbain	Egée	Grèce	Insulaire	Rivage
Kardamaina	9	9	2	Classique - Paléochrétienne	urbain	Egée	Grèce	Insulaire	Rivage
Anavlochos	4	0	0	Bronze	urbain	Egée	Grèce	Île continentale	Montagnes

Asi Gonia	22	20	9	Romaine - actuelle	Tourbière de montagne	Egée	Grèce	Île continentale	Montagnes
Labraunda	8	8	2	Romaine	urbain	Egée	Turquie	Continent	Hinterlands
Megara Hyblaea	4	0	0	Classique	sépultures	Ionienne	Italie	Île continentale	Rivage
Pompei	1	0	0	Romaine	urbain	Tyrrhénienne	Italie	Continent	Rivage
Florence (Galerie des Offices)	22	6	1	Romaine	sépultures	Tyrrhénienne	Italie	Continent	Hinterlands
La Biagiola	15	13	2	Médiévale	ferme - sépultures	Tyrrhénienne	Italie	Continent	Hinterlands
Mare stagno	26	2	2	Romaine	ferme	Tyrrhénienne	France	Insulaire	Rivage

Utique	6	3	1	Romaine	urbain	Tyrrhénienne	Tunisie	Continent	Rivage
Pollentia	23	22	2	Romaine - vandale	urbain	Baléares	Espagne	Insulaire	Rivage
Baelo Claudia	22	13	1	Romaine - vandale	urbain – sépultures	Alboran	Espagne	Continent	Rivage
Total	300	154	11						
Moy.	18,75		1,8						

Tableau 2 Récapitulatif des sites étudiés au cours de ce travail.

Les sites grecs

Délos

L'île de Délos est située au cœur des Cyclades dans la Mer Egée. D'une longueur de 5 km du Nord au Sud, elle ne dépasse pas 1300 m de largeur d'Ouest en Est, pour une superficie d'environ 360 ha. Sa côte est extrêmement escarpée du fait de l'érosion marine et éolienne, en particulier sa presque île nord dominée par le gneiss et battue par les vents forts du *meltem*. L'île ne dispose de fait que de rares mouillages naturels : la baie de Skardana au nord, la baie de Gournà à l'Est, le port antique dans la plaine centrale à l'Ouest, et la baie de sable blanc de Fourni au sud. Contrairement aux autres îles des Cyclades, Délos s'élève peu du niveau de la mer, avec pour point culminant le Mont Cynthe, d'une altitude de 120 m. Ce dernier est flanqué des collines de Plakès au nord, de Ghlastropi à l'Ouest, et de Kato Vardhia au sud, culminant respectivement à 36, 35, et 86 m. La partie sud de l'île est dominée par le granit à compter du Mont Cynthe, sur les flancs duquel se trouve également un gisement de marbre blanc à gros grain exploité pour la construction locale, de même que le gneiss et le granit (Gallois, 1910 ; Cayeux, 1911 ; Brun, 1996 ; Bruneau *et al.*, 2005).

Le climat de l'île est semi-aride, avec une pluviométrie annuelle n'excédant pas 400 mm et dont les précipitations se concentrent entre l'automne et l'hiver, alors que le printemps est extrêmement court et l'été météorologique très étendu. Pour autant, l'eau est abondante dans les nappes phréatiques peu profondes de l'île, du fait du sol granitique favorisant l'infiltration rapide des eaux de ruissellement. La ville antique est de fait parsemée d'une très grande quantité de citernes et de puits destinés à capter ces eaux souterraines. Par ailleurs, le paysage rural au sud de l'île porte encore la marque évidente de l'organisation en terrasses des zones de culture, facilitant ainsi grandement la rétention de l'eau tout en limitant au maximum l'érosion des sols. Ces terrasses étaient par ailleurs alimentées par l'eau de ruissellement collectée dans différents bassins-réservoirs, parsemant toujours les hauteurs de la campagne délienne. Le réservoir le plus imposant, sur le flanc Ouest du Mont Cynthe, capte les eaux du petit torrent de l'Inopos, principal cours d'eau de l'île, au débit faible et intermittent, le plus souvent asséché. Le réservoir de l'Inopos a cependant permis l'assèchement des marécages de la plaine et d'y construire l'Agora des Compétaliastes (Brunet *et al.*, 2003 ; Desruelles, 2006).

Si les plus anciennes traces de peuplement sur l'île de Délos datent du 3^{ème} millénaire avant notre ère, rien ne permet de dire formellement, comme l'affirme Thucydide (THUCYDIDE, *La guerre du Péloponnèse*, I, 8), que Délos était alors particulièrement fréquentée par des pirates. L'intensité du peuplement semble varier de l'époque mycénienne (1400-1200 avant notre ère environ) à l'époque géométrique (10^{ème} – 8^{ème} siècles) avec des influences plus ou moins marquées des îles proches de Naxos et de Paros à l'époque Archaïque (7^{ème} – 6^{ème} siècles). Les structures échantillonnées appartiennent cependant à la période de la domination athénienne (167-69) et de l'époque impériale (Bruneau *et al.*, 2005).

La domination athénienne sur l'île de Délos est octroyée par le Sénat romain alors victorieux contre le roi Persée de Macédoine, et asseyant son emprise sur l'Egée. La perte d'indépendance de Délos est alors moins une punition pour la neutralité de l'île durant cette guerre qu'un moyen de ruiner la puissance commerciale d'alors dans la région : Rhodes. Le Sénat déclare effectivement l'île de Délos port franc afin d'y capter tout le commerce de la région, et marquant alors très fortement le développement de la ville. A partir de cette période

effectivement, l'exemption commerciale dont jouit la cité attire une population très nombreuse de tout le pourtour Méditerranéen. Il s'agit largement de commerçants et de bourgeois Athéniens, Italiens, Égyptiens, Syriens, Phéniciens, Juifs et Samaritains. De fait, la ville connaît alors un accroissement urbain sans précédent, si bien que les archéologues ont parlé du développement d'une véritable « ville-champignon », qui voit notamment la création de toute pièce de quartiers précédemment peu ou pas habités, comme le quartier Nord de Skardana où s'établit notamment le local des marchands de Beyrouth, l'établissement des Posédoniastes de Berytos. De fait, la plupart des habitations actuellement fouillées sont généralement datées de la seconde moitié du 2^{ème} et du début du 1^{er} siècles avant notre ère (Bruneau *et al.*, 1996).

Après les saccages des années 88 et 69, perpétrés respectivement lors du débarquement des troupes du roi du Pont, Mithridate Eupatôr dans la guerre qui l'opposait à Rome, puis par les pirates d'Athénodôros, alliés de Mithridate, la ville se dépeupla rapidement, et ses quartiers périphériques furent partiellement abandonnés. Cette tendance ne fut qu'encouragée par le développement d'autres centres commerciaux sur les rivages de l'Empire, comme Pouzzoles, rendant alors Délos dispensable dans le trafic maritime entre l'Italie et l'Orient. Elle reste alors une petite agglomération avant d'être abandonnée aux environs du 6^{ème} siècle de notre ère et de ne connaître par la suite que des occupations ponctuelles au gré de l'hégémonie des différentes puissances méditerranéennes (Roussel, 1916 ; Bruneau, 1968 ; Nicolet *et al.*, 1980).

Au total, 113 échantillons de sédiment ou de concrétions ont été prélevés dans les latrines ou les égouts d'évacuation de Délos pour leur analyse sous microscope optique. Parmi ceux-ci, 8 échantillons ont également été analysés à la recherche d'ADN ancien, et 13 à la recherche de paléo-antigènes. Un chapitre spécial est dédié au site de Délos dans la suite de ce manuscrit.

Kardamaina

La ville moderne de Kardamaina est située sur la côte sud de l'île de Kos à 7 km de la ville éponyme. Le site archéologique situé sur la commune à proximité immédiate de la mer et des zones habitées correspond à la cité ancienne d'Halasarna. L'occupation de l'île de Kos est attestée depuis le Néolithique, et les sites de l'âge du bronze y sont par ailleurs nombreux, mais elle semble fleurir à l'époque Mycénienne (Kokkorou-Alevras et Panayotidi-Kesioglou, 2006).

L'île de Kos est notablement connue pour son Asklepieion et l'école médicale fondée par Hippocrate à la fin du 5^{ème} siècle avant notre ère, dont les enseignements resteront longtemps prépondérants dans tout le monde gréco-romain. Mais l'île est également connue pour son commerce, notamment du vin exporté en amphores caractéristiques de leur provenance. La position de l'île sur les voies commerciales reliant la Mer Noire, l'Asie Mineure (actuelle Turquie), Chypre, la Palestine et l'Égypte, lui ont octroyé une prospérité certaine aux époques hellénistique et romaine. Les différentes influences opérées sur l'île tour à tour par les généraux d'Alexandre, les bonnes relations avec ceux-ci et après eux avec Rhodes et Rome, contribuèrent au maintien de cette prospérité. Durant la période républicaine, Kos est une cité libre faisant partie de la province romaine d'Asie Mineure. En l'année 53, elle obtient l'exemption de taxes, octroyée par l'empereur Claude, grâce au médecin personnel de ce dernier, Gaius Stertinius Xenophon, lui-même originaire de l'île.

Les échantillons provenant de Kardamaina (ancienne Halasarna) ont été collectés dans 9 canalisations (1 échantillon par structure), probables drains ou égouts, dans les zones d'époque hellénistique et paléo-chrétienne. Les structures alors anciennement fouillées, ont fait l'objet d'un nettoyage afin de déterminer les possibilités d'échantillonnage paléoparasitologique. Dans certains cas, le nettoyage a permis d'atteindre les limites des fouilles anciennes et de pratiquer les échantillonnages dans la coupe stratigraphique rafraîchie. Dans d'autres, les concrétions tapissant le fond des canalisations et qui pouvaient avoir été laissées exposées à l'air libre depuis leurs fouilles ont été échantillonnées. De fait, les prélèvements opérés à Kardamaina consistent d'une part en concrétions calcaires provenant de canalisations anciennement fouillées, et d'autre part en sédiment provenant d'une coupe stratigraphique rafraîchie dans le conduit d'un égout incomplètement fouillé et disposant toujours de sa dalle de couverture.

Asi Gonia

La tourbière d'Asi Gonia se trouve dans les Montagnes Blanches (Lefka Ori) à l'Ouest de la Crète dont le point culminant, le Mont Pahnès, s'élève à 2453 m d'altitude. La tourbière elle-même se trouve à 780 m d'altitude, à proximité des villages d'Asi Gonia, Kallikratis et Myriokephala. Bien que le climat de la Crète soit méditerranéen, la zone d'Asi Gonia est nettement plus humide et reçoit une part importante de ses précipitations sous forme de neiges hivernales. La tourbière a été formée au creux d'un bassin versant par les ruissèlements de printemps et alimente la rivière Koularas. Elle repose sur un substrat de schistes phylliteux et de calcaire mésozoïque altéré (Jouffroy-Bapicot *et al.*, 2016).

La végétation (1990 à actuel) dans la zone de la tourbière consiste principalement en une phrygane typiquement méditerranéenne de buissons épineux résistants aux conditions sèches et aux herbivores consommateurs de feuillages, telle la pimprenelle épineuse (*Sarcopoterium spinosum*). On observe également une végétation de steppe boisée. Les sols les plus profonds sont entourés de grandes fougères (*Pteridium aquilinum*) qui dominent notamment le dépôt tourbeux. Le site est entouré de quelques châtaigniers communs (*Castanea sativa*) et de platanes d'Orient (*Platanus orientalis*), alors qu'une petite zone ouverte s'étend à l'Ouest marquée par les laïches (*Carex*) et les joncs (*Juncus*). Les oliviers sont cultivés en terrasse à plus basse altitude.

L'aridification importante de la zone a été documentée depuis le début des années 2000. Celle-ci est essentiellement due à l'activité pastorale par le détournement des cours d'eau alimentant la tourbière par ailleurs fréquentée, de même que tout le bassin versant, par les moutons et chèvres domestiques qui y sont élevés.

S'il est fort probable que la Crète ait été peuplée dès le Mésolithique, la datation par carbone 14 d'échantillons provenant du fond de la tourbière d'Asi Gonia indique que celle-ci a commencé sa formation aux environs du premier siècle avant notre ère, soit au début de la domination romaine de l'île.

Au cours de son histoire, la Crète est passée par de nombreuses dominations étrangères, à commencer par celle de Rome en 69 avant notre ère qui voit la ville de Gortyne sur la côte Sud devenir la capitale de la province de Crète et de Cyrénaïque. Cette période, de même que la première période Byzantine qui suivra (324-824 de notre ère), est une période très prospère pour la Crète, avant que celle-ci ne subisse un siècle de raids des Sarrasins andalous et que l'île ne tombe sous domination musulmane en 824. La Crète, qui devient alors un centre

économique et stratégique du monde musulman, voit sa capitale déplacée dans la ville de Chandax sur la côte Nord, future Héraklion. L'île retombe sous domination Byzantine en 961, puis sous une très prospère domination Vénitienne en 1204, dont les marchands acquièrent les terres qu'ils exploitent notamment pour l'exportation de vin et de blé. Le 14^{ème} siècle est fortement marqué par les révoltes et la Peste Noire avant que l'île ne retrouve une certaine prospérité. La conquête ottomane en 1669 voit la réorientation des cultures pratiquées en Crète, au profit du blé et de l'olive et au détriment de la vigne. Le 18^{ème} siècle est marqué par les troubles, la guerre et les épidémies, avant que l'île ne rejoigne la Grèce en 1913.

Au total, 22 échantillons de sédiment répartis le long d'une carotte de 6 m de long couvrant la totalité de l'épaisseur de la tourbière ont été prélevés pour être analysés en microscopie optique. Un chapitre spécial est dédié au site d'Asi Gonia dans la suite de ce manuscrit.

Les sites italiens

Florence (Galerie des Offices)

Si la région de Florence était déjà habitée aux époques précédentes, la ville romaine elle-même de *Florentia* a été fondée en 59 avant notre ère. Située dans le Nord de la Toscane sur la marge orientale du bassin de Florence-Pistoia, elle prend pied à 50 m d'altitude sur la rive droite du fleuve Arno et est cernée au Nord-Est par le Mont Morello et au Sud-Ouest par le Mont Albano, qui culminent respectivement à 934 et 250 m d'altitude (Nicosia *et al.*, 2012).

La ville, prospère durant la période du Haut-Empire, connaît un déclin économique au Bas-Empire jusqu'au 5^{ème} siècle. Elle est alors assiégée, en 406, par les troupes de Radagaisus, qui sont néanmoins défaits par l'intervention du général romain Stilichon. Si les Goths ne parviennent donc jamais à rentrer dans Florence, la population en sort néanmoins meurtrie. L'aqueduc alimentant la ville, détruit à cette époque ne sera jamais reconstruit par la suite. Il n'est pas clair cependant si l'ouvrage a été détruit pendant le siège de Radagaisus, ou indépendamment de celui-ci (De Marinis, 1996; Heather, 2006 ; Cardini, 2006 ; Cantini *et al.* 2007).

C'est dans ce contexte que s'inscrivent l'ensemble des échantillons étudiés dans ce travail, provenant d'une zone funéraire fouillée entre 2008 et 2014 sous la Galerie des Offices de Florence, et datées de la fin du 4^{ème} – début du 5^{ème} siècle. Cette datation par mobilier archéologique (monnaies associées aux sépultures) ne permet pas en revanche d'indiquer que les défunts ont effectivement vécu le siège voire en auraient été victimes, d'autant plus que celui-ci n'a duré que l'été 406. Cependant, le grand nombre de tombes multiples dans cette zone située en dehors des murs de la ville antique a permis d'y reconnaître des sépultures de masse. L'absence de traces évidentes de violences interpersonnelles a par ailleurs permis de suggérer que les défunts avaient été victimes d'une épidémie dont l'étiologie est cependant encore inconnue. Sur 75 individus exhumés, 18 ont fait l'objet d'un diagnostic paléoparasitologique sous microscope, et 5 d'entre eux ont fait l'objet d'extractions d'ADN ancien à la recherche d'helminthes gastro intestinaux. Un chapitre spécial est dédié au site de la Galerie des Offices dans la suite de ce manuscrit.

La Biagiola

Le site de la Biagiola se trouve sur le territoire de la *frazione* de Sovana rattachée à la commune de Sorano, dans le sud de la Toscane. Le territoire est notablement connu pour sa nécropole étrusque, et a été romanisé au cours du 3^{ème} et 2^{ème} siècles avant notre ère. L'histoire des établissements ruraux du territoire de Sovana est cependant très peu connue (Nejrotti et Mazzon, 2015).

Le site de la Biagiola présente plusieurs niveaux d'occupation succédant à un établissement étrusque tardif sur lequel s'est implantée une villa romaine, plus tard réemployée au Haut Moyen-Âge lombard. Le cimetière implanté autour de l'établissement date de cette époque sans qu'il soit possible pour le moment d'en déterminer avec exactitude la durée d'utilisation. Les échantillons prélevés à la Biagiola proviennent ainsi de 10 individus inhumés dans ce cimetière, dont deux ont fait l'objet de prélèvements *in situ* en cours de fouilles, et huit ont fait l'objet de prélèvements sur les restes ostéologiques entreposés au musée de Sorano.

Les sites espagnols

Pollentia

Pollentia est une cité romaine située au Nord-Ouest de Majorque sur le territoire de l'actuelle ville d'Alcudia de la communauté autonome des Baléares, et est enclavée sur la péninsule entre la baie de Pollentia au nord, et la baie d'Alcudia au sud. Elle a été fondée au 1^{er} siècle avant notre ère, après la conquête romaine de l'île en -123 par le consul Quintus Caecilius Metellus afin de mettre fin à la piraterie sévissant alors en Méditerranée occidentale. La ville ayant certainement d'abord été un camp militaire romain, ses plus anciens vestiges actuellement connus sont datés de 70-60 avant notre ère, mais sa fondation et son peuplement sont les conséquences directes de la conquête et de l'établissement de vétérans et de colons romains sur l'île. A la même époque et pour les mêmes raisons, la cité de Palma est fondée au Sud-Ouest de Majorque (Cau et Chávez, 2006).

Pollentia connaît sa plus forte extension du 1^{er} siècle avant notre ère jusqu'au 3^{ème} siècle de notre ère avec une superficie d'environ 30 ha. Aux alentours de 270-280 cependant, un incendie ravage une partie de la ville qui, si elle n'est pas abandonnée, ne retrouvera néanmoins jamais son activité précédente pour finalement péricliter au 6^{ème} siècle.

Les 23 échantillons analysés à Pollentia proviennent principalement de deux structures, à savoir un égout d'époque romaine dans la zone des fortifications à l'Ouest du forum, et d'une fosse-dépotoir d'époque tardive, certainement vandale, également dans la zone des fortifications. Une partie des échantillons provient de structures d'époque républicaine ou impériale à la datation incertaine. Il s'agit notablement du *macellum* en bordure duquel une bouche d'égout servant vraisemblablement à collecter les déchets de la place a pu faire l'objet de prélèvements, ainsi qu'un égout et une possible fosse situés dans la zone résidentielle au Nord-Ouest du forum.

Baelo Claudia

La cité romaine de Baelo Claudia se trouve en bord de mer sur le territoire de la commune de Tarifa, province de Cadix, en Andalousie. Si la zone était déjà le lieu d'un établissement carthaginois, la cité romaine naît au 2^{ème} siècle avant notre ère et se développe grâce au

commerce avec l’Afrique du Nord dont elle se trouve tout particulièrement proche. La ville connaît son apogée sous le Haut-Empire, et est alors particulièrement renommée pour son activité de pêche et de salaison ainsi que la fabrication du *garum*, mets largement consommé et apprécié dans l’Empire Romain (Sillières, 1995).

Baelo Claudia connaît néanmoins un fort déclin à la fin du 2^{ème} siècle de notre ère, certainement sous l’effet conjoint d’un important séisme au 3^{ème} siècle et de l’instabilité politique du Bas-Empire. Si elle reste habitée du 4^{ème} au 6^{ème} siècles, sans jamais retrouver son ancienne splendeur, elle semble définitivement abandonnée au 7^{ème} siècle.

Sur 22 échantillons étudiés sous microscopie optique, 6 proviennent de 3 canalisations d’époque augustéenne et impériale. Les autres échantillons proviennent de 3 secteurs récemment fouillés et d’époque tardive, incluant dans le secteur Sud-Est du forum l’abside de l’édifice monumental au sud de la Grande *domus* et réoccupée entre les 5^{ème} et 6^{ème} siècles ; le comblement de l’aqueduc de Punta Paloma au niveau de son intersection avec le rempart extérieur de la ville au-dessus de son *decumanus*-Nord ; ainsi que de 3 individus inhumés dans le secteur de la nécropole orientale en bordure immédiate du trait de côte antique.

Les autres sites méditerranéens

Labraunda (Turquie)

Le site de Labraunda est situé au sud-ouest de la Turquie, à 14 km de la ville de Milas dans la province de Muğla. Les vestiges, appartenant à un sanctuaire grec d’Asie mineure, font l’objet de fouilles archéologiques depuis les années 1940 (Henry *et al.*, 2012).

Les fouilles récentes du remplissage d’une structure encore non identifiée ont donné lieu à un prélèvement de sédiment envoyé au laboratoire Chrono-environnement de Besançon. Au sein de ce volume unique, 8 sous-échantillons ont été prélevés pour des analyses microscopiques.

Utique (Tunisie)

Le site d’Utique se trouve au nord de la Tunisie, à une trentaine de kilomètres de Tunis, dans la région de Bizerte. Si les vestiges de la ville antique se trouvent aujourd’hui à l’intérieur des terres, ce n’était pas le cas durant l’Antiquité. En effet, Utique était à cette époque une ville portuaire située directement sur la côte méditerranéenne, mais les alluvions de la Medjerda l’ont peu à peu isolée du trait de côte (Pleuger *et al.*, 2019).

Six échantillons provenant de 3 égouts vraisemblablement d’époque romaine ont été envoyés au laboratoire Chrono-environnement pour des analyses paléoparasitologiques.

Mare Stagno (France)

Le site de Mare Stagno est situé sur la côte de la plaine orientale corse, à moins de 3 km de la ville romaine d’Aléria. Les fouilles ont permis de déterminer que cet établissement d’époque romaine était certainement une villa viticole d’importance modeste. D’une superficie totale

de 650 m², il a effectivement été possible de distinguer nettement une zone résidentielle, notamment constituée de bains et dénotant le caractère élitaires de l'établissement, et une zone agraire marquée par la présence de structures discriminantes, tels fouloir, pressoir, et cuve de recueil. L'étude des macrorestes botaniques a de surcroît mis en évidence la présence de la vigne, de l'olivier et du pistachier (Brkojewitsch *et al.*, 2020).

La céramique et les monnaies découvertes en 2017 ont permis d'affiner la période d'occupation de cette villa du dernier quart du 1^{er} siècle de notre ère, au dernier quart du 3^{ème} siècle.

Plusieurs structures, réparties aussi bien dans la partie urbaine que dans la partie agraire de la villa ont fait l'objet de prélèvements de sédiments pour analyse paléoparasitologique. Au total, 26 échantillons ont été analysés, provenant notamment de la fosse dépotoir fs203, fosse domestique ayant livré le plus de macrorestes botaniques, ainsi que la fosse fs236 située au nord des bains et pourrait avoir été utilisée pour l'évacuation des eaux de ces derniers. Plus originale, une cuve (Cu314) de recueil temporaire de jus (jusqu'à fermentation), installation typique de ce genre d'établissement, a également fait l'objet d'échantillonnages. Si les analyses physico-chimiques du mortier de tuileau tapissant le fond de la cuve ont mis en évidence sa fonction de stockage, notamment par les marqueurs chimiques du raisin noir, les échantillons paléoparasitologiques ont été réalisés dans les différentes couches de remblai de cette structure, post-datant donc son utilisation dans le processus de production agricole. Les fragments de céramiques découverts dans ces remblais permettent de suggérer l'abandon de la cuve à la fin du 2^{ème} siècle de notre ère, qui pourrait d'ailleurs marquer le déclin progressif de la villa.

Chapitre 2 : Les échantillons

La majorité des échantillons étudiés concerne du sédiment collecté dans des latrines, égouts et sépultures, ainsi qu'une plus petite proportion d'amas de concrétions ne pouvant être individualisés. Ainsi, 300 échantillons, de sédiment ou de concrétions, ont été étudiés sous microscope optique à la recherche d'œufs d'helminthes. En moyenne, ~18 échantillons ont été étudiés par site, mais l'écart est très important, avec un minimum de 1 échantillon pour le site de Pompéi, et de 113 pour le site de Délos. Par ailleurs 18 échantillons ont fait l'objet d'extractions d'ADN selon le protocole décrit en détail plus loin, mais ceux-ci ont été restreints aux seuls sites de Délos et de la Galerie des Offices. Enfin, 13 échantillons collectés à Délos ont fait l'objet d'un sous-échantillonnage en vue de la recherche exploratoire de paléo-antigènes.

Chapitre 3 : Méthodes

La paléoparasitologie

Principes généraux

La paléoparasitologie concerne l'étude du parasitisme dans les populations humaines et non-humaines au cours du temps par l'analyse de ses traces fossiles et subfossiles. Ces traces peuvent consister en des microrestes laissés dans leur environnement par les espèces possédant des formes de dissémination résistantes aux processus taphonomiques, tels certains protozoaires ou les helminthes ovipares, dont il est respectivement possible d'observer les kystes et les œufs microscopiques préservés à des échelles de temps historiques et géologiques. Il peut également s'agir de la signature moléculaire de ces espèces parasites, à savoir leurs protéines antigéniques ou leur séquence ADN. Plus rarement, tout ou partie de larves ou de formes adultes d'endoparasites eucaryotes peuvent être observées, notamment lors de l'étude de momies naturelles ou artificielles. Aucune limite temporelle ne conditionne intrinsèquement l'étude du parasitisme dans le passé sinon la possibilité d'en détecter les traces : des œufs de cestodes observés dans un coprolithe d'élastomobranche âgé de 270 millions d'années (Dentzien-Dias *et al.*, 2013), ou la séquence ADN de la souche européenne éteinte du *Plasmodium* dans des lames médicales du début du 20^{ème} siècle (Gelabert *et al.*, 2016) rendent assez bien compte du panorama offert par la discipline. La paléoparasitologie s'est cependant focalisée historiquement sur la recherche d'endoparasites eucaryotes, et s'est en cela développée séparément de la paléomicrobiologie, qui n'a émergé que dans les années 1990.

Début du 20^{ème} : les âges héroïques et l'invention de la paléoparasitologie

Il est possible de faire remonter la paléoparasitologie en tant qu'approche scientifique à l'année 1910. En effet à cette période, Marc Armand Ruffer (Lyon 1859 - Salonique 1917), ancien élève de Louis Pasteur et professeur de bactériologie à l'université du Caire, entreprend l'étude pathologique de momies datées de différentes époques de l'Égypte ancienne. Pratiquant des lames minces de tissus rénaux chez une momie de la 20^{ème} dynastie (1250 – 1100 AEC), il observe alors sous microscope des œufs calcifiés du Schistosome, parasite du système urinaire d'importance épidémiologique certaine encore de nos jours en Égypte, et dont il démontre alors l'ancienneté du fardeau dans cette région du monde. Cette publication princeps intitulée *Note on the presence of "Bilharzia haematobia" in egyptian mummies of the twentieth dynasty [1250-100 B.C.]* (1910) et publiée dans *The British Medical Journal*, ne comporte alors aucune photographie, mais Ruffer indique que son diagnostic a été confirmé par d'autres observateurs. Plus tard dans le 20^{ème} siècle, différentes espèces de Schistosomes seront à nouveau détectées par diverses approches diagnostiques et dument documentées, accréditant définitivement l'observation faite par Ruffer. On ne trouve cependant pas de mention dans cet article du terme paléoparasitologie, dont Ruffer ne saisit pas l'occasion d'en inventer le nom. Et pour cause, comme nous l'a suggéré Olivier Dutour, Ruffer n'en a pas vraiment besoin : il ne fait alors rien d'autre que de la paléopathologie.

Les premiers travaux faisant à nouveau mention de la détection de parasites ne seront produits qu'en 1944 par Lothar Szidat, détectant alors des œufs d'helminthes dans les contenus intestinaux de deux momies de tourbière du 5^{ème} siècle de notre ère en Pologne actuelle (Szidat, 1944). Il faudra encore attendre la décennie suivante en 1954 pour que Pizzi et Schenone, étudiant alors le contenu intestinal d'une momie Inca, y découvrent la présence

d'œufs de nématodes et possiblement de kystes d'amibes gastro-intestinales ; et 1955, pour que Taylor détecte des œufs d'helminthes dans des sédiments d'époque romaine en Angleterre (Pizzi et Schenone, 1954 ; Taylor, 1955).

Vers l'archéologie environnementale

La publication en 1960 par Callen et Cameron de leurs analyses de selles déshydratées attribuées à la population préhistorique de Huaca Prieta dans la vallée de Chicama sur la côte péruvienne, est globalement considérée comme une étape pivot dans l'émergence de la paléoparasitologie comme recherche systématique des restes conservés de parasites dans des échantillons anciens. Lors de cette étude suggérée par Junius Bird, les auteurs ont effectivement rapporté l'observation d'œufs de cestodes attribués à *D. latum*, mais ont surtout proposé une méthode simple de réhydratation des spécimens biologiques anciens, très peu stringente et applicable à des coprolithes ou paléofèces entiers. Ils adaptaient pour cela la méthode préalablement développée par van Cleave et Ross (1947) de réhydratation de tissus animaux et végétaux en solution de phosphate trisodique durant 72 heures. Tout en plaidant pour l'utilité et la faisabilité de l'étude des fèces anciennes, son intégration dans les problématiques alors émergentes d'études systématiques des restes biologiques et environnementaux en contexte archéologique, et l'observation ce faisant de restes de parasites, Callen et Cameron ont effectivement marqué la discipline et certainement participé à la projeter vers l'archéologie environnementale naissante où des non-médecins et non-vétérinaires pourraient alors s'en emparer à juste titre. De surcroît et ce dès avant la publication de *The Columbian Exchange* par Alfred Crosby en 1972, Callen et Cameron pointaient dans cet article la possibilité de recourir à ce type de matériaux afin d'étudier la circulation des organismes infectieux au cours de l'histoire, notamment de leurs migrations transcontinentales pré- et post-contact (Callen et Cameron, 1960).

L'apport moteur de la paléoparasitologie américaine

Les publications se multiplient dans les années 60 et 70, dont deux commises dans *Science* (Fry et Moore, 1969 ; Moore *et al.*, 1969) et couvrent des aires chrono-géographiques variées (Faulkner et Reinhard, 2014). La décennie de 1970 est marquée par le début de la recherche en paléoparasitologie au Brésil à la Fondation Oswaldo Cruz (Araujo *et al.*, 2015) qui est depuis lors un groupe leader de la discipline. La première mention de la paléoparasitologie apparaît dans le titre de l'une de ses publications en 1979 (Ferreira *et al.*, 1979), mais n'est pas reprise dans la version anglophone de cet article (Ferreira *et al.*, 1980). Les années 80 voient le développement des travaux de paléoparasitologie notablement en Amérique du nord et les efforts de Karl Reinhard et collègues qui s'appliquent alors à étudier la variation régionale et temporelle du parasitisme chez les populations amérindiennes du plateau du Colorado en relation avec les variations culturelles et comportementales de ces différentes populations (Reinhard *et al.*, 1987). Il s'agit de la première étude de ce type alors que la majorité des publications portaient jusque-là sur la mention de spécimens parasitaires dans des aires encore inexplorées (Faulkner et Reinhard, 2014). En 1989, Faulkner et collègues étendent notablement les capacités diagnostiques de la discipline par la première utilisation de l'immunofluorescence à la recherche de kystes de *Giardia* sp. dans des selles d'époque préhistorique (Faulkner *et al.*, 1989). Les années 90 voient le développement important de l'étude de selles non-humaines en contexte paléontologique, mettant notamment en lumière des relations hôtes-parasites pléistocènes actuellement éteintes (Ferreira *et al.*, 1991). Similairement, l'étude des coprolithes de la mégafaune éteinte (notamment du paresseux

terrestre de Shasta, *Nothrotheriops shastensis*) permet, pour la première fois, de définir de nouvelles espèces de parasites connues uniquement dans le registre fossile (Schmidt *et al.*, 1992). Comme le relèvent Faulkner et Reinhard, cette diversification de la paléoparasitologie en dehors du contexte strictement archéologique donne toute sa légitimité à la discipline comme champ à part entière, ayant son existence propre, ses problématiques, et trouvant son matériel dans différents contextes, bien que le lien et les relations avec l'archéologie demeurent inévitablement fortes et absolument nécessaires (Faulkner et Reinhard, 2014).

Les années 2000 et le développement de la paléoparasitologie moléculaire

Les années 2000 voient émerger l'assise des groupes actuellement leaders en paléoparasitologie. Aux équipes américaines s'ajoutent notablement durant cette décennie les deux équipes européennes conduites respectivement par Piers Mitchell à l'Université de Cambridge, et Matthieu Le Bailly à l'Université de Bourgogne Franche-Comté (équipe initialement fondée par Françoise Bouchet dans l'UFR de pharmacie de l'Université de Reims Champagne-Ardenne), alors qu'une large part de la littérature concernant l'Asie du Sud-Est est produite par l'équipe de Dong Hoon Shin de l'Université Nationale de Séoul. Le tournant des années 2000 voit les premiers travaux de paléoparasitologie moléculaire confirmés par séquençage. Ainsi en 2001, Loreille et collègues isolent sous microscope plusieurs œufs d'*Ascaris* sp. provenant de latrines du 14^{ème} siècle en Belgique, dont ils parviennent à extraire l'ADN, à l'amplifier et à en produire une séquence (Loreille *et al.*, 2001). La même année, Madden et collègues ont détecté l'ADN du protozoaire *Trypanosoma cruzi* dans les tissus d'une momie naturelle du désert d'Atacama âgée de 2000 ans (Madden *et al.*, 2001). Les publications concernant l'ADN ancien de parasites restent cependant rares pendant la décennie suivante, et l'année 2015 marque la première thèse de paléoparasitologie moléculaire, soutenue par Nathalie Côté à Besançon (Côté, 2016). Alors que différentes approches ont permis d'obtenir l'ADN ancien d'helminthes gastrointestinaux de différents contextes (par hybridation, PCR simplex et multiplex, séquençage Sanger et NGS) (Côté et Le Bailly, 2018), le présent travail s'inscrit pleinement dans l'effort actuel de systématisation du diagnostic moléculaire en paléoparasitologie et à l'intégration de la discipline dans le champ plus large de l'ADN ancien.

La recherche d'helminthes sous microscope

Principes de la recherche d'helminthes en contexte archéologique

Dans la majorité des cas, le diagnostic paléoparasitologique repose sur la détection des formes de résistance d'helminthes gastrointestinaux dans des échantillons de sédiments souillés de selles humaines ou d'autres animaux, ou de ces selles elles-mêmes. Les œufs microscopiques laissés derrière eux par les helminthes pourront être observés sous microscope optique.

Qu'il s'agisse de selles conservées (coprolithes/paléofèces) ou de sédiments archéologiques, l'analyse de ces échantillons nécessite leur mise en solution préalable. Il peut s'agir d'une solution aqueuse à l'eau distillée ou ultra-pure, mais la plupart des techniques employées en paléoparasitologie dont celle mise en œuvre dans le présent manuscrit (protocole RHM) emploient des réactifs supplémentaires. Ces réactifs facilitent la réhydratation des spécimens biologiques présents dans l'échantillon (parasitaires ou non) et leur mise en solution par leur séparation d'avec la matrice sédimentaire qui les entoure. Le temps de réhydratation peut également varier en fonction des protocoles suivis, mais celui-ci est d'une semaine dans le

protocole RHM. Les échantillons ainsi réhydratés sont par la suite homogénéisés avant de faire l'objet d'un micro-tamissage. Les concentrations de particules obtenues et contenant possiblement les restes des parasites recherchés peuvent alors être conservés dans de l'eau distillée en vue de leur analyse microscopique.

La réhydratation

La réhydratation permet de redonner leur aspect frais aux tissus biologiques contenus dans l'échantillon réhydraté. Différents media sont utilisés pour procéder à cette réhydratation selon les laboratoires. Le protocole RHM suivi à Besançon emploie quant à lui le phosphate trisodique (TSP), d'abord utilisé pour la réhydratation de tissus animaux et végétaux par van Cleave et Ross (1947), van Cleave et Delinger, puis Benninghoff (Figuerero Torres, 1982). Plus tard, Callen et Cameron (1960) ont appliqué l'emploi du TSP à la réhydratation de paléofèces complets suivis par Pike en 1968. L'action de facilitation de la réhydratation par le TSP est permise par ses propriétés d'agent mouillant réduisant la tension de surface d'un liquide et lui permettant dès lors de pénétrer plus facilement à l'intérieur d'une masse solide.

La réhydratation exploite également l'effet défloculant du TSP. En effet, les microfossiles recherchés, de l'ordre de quelques dizaines de micromètres dans leur plus grande longueur, peuvent être emprisonnés dans les agrégats de particules fines comme les argiles. Les polyphosphates, dont le TSP, agissent sur les agrégats en repoussant les uns des autres les feuillets qui les composent (Bates *et al.*, 1978).

Du glycérol est ajouté à la solution de TSP pour ses propriétés hygroscopiques. Conjointement avec le TSP, il favorise l'entrée de l'eau dans les restes biologiques et agit lui aussi comme défloculant (Walker, 1950).

L'homogénéisation

L'action défloculante du TSP et du glycérol n'assure pas parfaitement la dissolution des agrégats de sédiments. Afin d'optimiser la mise en solution des microfossiles contenus dans ces agrégats, les échantillons sont broyés manuellement dans un mortier à l'issue de leur réhydratation. Cette étape est particulièrement indiquée dans le cas d'une forte induration des échantillons étudiés. Suite à ce broyage, les échantillons sont placés dans une cuve à ultrasons pendant une minute de sorte à retirer le maximum de la gangue sédimentaire qui pourrait toujours se trouver agglomérée autour des microfossiles et empêcher leur identification, la prise de mesure où la distinction de caractères anatomiques sous microscope.

Le micro-tamissage

Les échantillons réhydratés et homogénéisés n'ont à ce stade fait l'objet d'aucun tri des éléments organiques et minéraux qu'ils contiennent. Le micro-tamissage a pour fonction d'opérer ce tri en retirant les éléments trop petits ou trop gros de la matrice pour contenir les microfossiles recherchés. La majorité de ces derniers varie en effet de ~30 à ~160 μm dans leur plus grande longueur, et différentes méthodes de filtration peuvent être utilisées afin d'extraire la fraction de matrice concernée et d'y concentrer le maximum d'œufs recherchés.

Lors de ce travail de thèse, c'est la méthode de filtration et de concentration par tamissage micrométrique qui a été employée. Les échantillons, après avoir été réhydratés et homogénéisés, ont été passés à travers une colonne de tamis à maillage calibré. Cette colonne

est constituée d'une succession de quatre tamis de maille 315 μm , 160 μm , 50 μm et 25 μm respectivement. Le lavage de l'échantillon est poursuivi sous un flux d'eau jusqu'à ce que le filtrat en sortie de colonne reste parfaitement limpide, signe que les particules les plus fines, notamment l'argile, ont été exclues de l'échantillon et ne viendront pas obscurcir les observations microscopiques. Les refus de tamis de mailles 315 μm et 160 μm sont également exclus, car ils contiennent les plus gros éléments de la matrice, notamment des graviers et macro restes végétaux. Les refus de tamis de mailles 50 μm et 25 μm sont quant à eux conservés séparément dans des tubes à hémolyse avec de l'eau distillée et quelques gouttes de formol afin d'éviter les développements fongiques et bactériens qui empêcheraient toute observation microscopique par la suite. Il est important de noter que le formol est un inhibiteur de réaction enzymatique, et que les produits d'extraction ainsi conservés ne pourront pas être utilisés pour des analyses moléculaires nécessitant ce type de réaction comme l'amplification par PCR.

Sédimentation

Les fractions de sédiments extraites peuvent ensuite être laissées à sédimenter pendant 24h de sorte à ce que les éléments les plus lourds de la matrice, comme les grains minéraux, tombent rapidement au fond de leur tube et que les éléments les plus légers et restés plus longtemps dans le surnageant comme les œufs de parasites tombent à la surface du dépôt d'où ils pourront alors aisément être pipetés.

Observations microscopiques

Après leur sédimentation, les fractions réhydratées peuvent faire l'objet d'une recherche systématique d'helminthes sous microscope optique. Les œufs d'helminthes sont en effet suffisamment volumineux pour être visualisés au grossissement 200x et discriminés au grossissement 400x.

Une goutte d'échantillon (~30 μl) est alors prélevée à la pipette Pasteur à la surface du dépôt de sédimentation, et placée entre lame et lamelle (22 x 22 mm). Le contenu de la lamelle est alors intégralement inspecté d'un bord à l'autre. Les œufs observés sont photographiés, mesurés, décrits et comptés. Tout autre élément remarquable contenu dans l'échantillon est également photographié et si possible, identifié par l'opérateur. Il peut s'agir de pollen, diatomées, acariens, sclérites d'arthropodes, tissus végétaux... Six lamelles sont ainsi lues par fraction, soient 12 lamelles par échantillon. La verrerie utilisée pour l'observation microscopique est alors à usage unique.

Identification des œufs d'helminthes

Les œufs d'helminthes peuvent être identifiés selon des clefs de détermination micromorphométriques. Ces critères anatomiques incluent les dimensions (longueur et largeur), la forme en coupe, l'ornementation de surface ou son absence, la présence de bouchons, d'opercule, ou leur absence, le nombre et la formes des couches composant la coque de l'œuf, la présence d'autres éléments comme un micron polaire ou la crénelure d'un opercule (**Figure 7** et **Figure 8**).

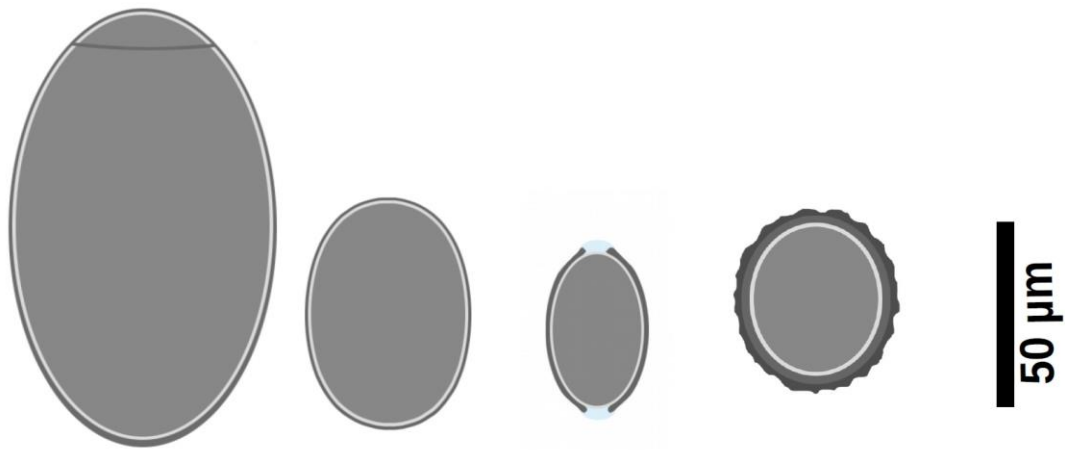


Figure 7 Schéma en coupe de plusieurs œufs d'helminthes gastrointestinaux. Sous microscope optique, ils peuvent être reconnus au niveau du genre, voire de l'espèce, selon leurs différences micromorphométriques.

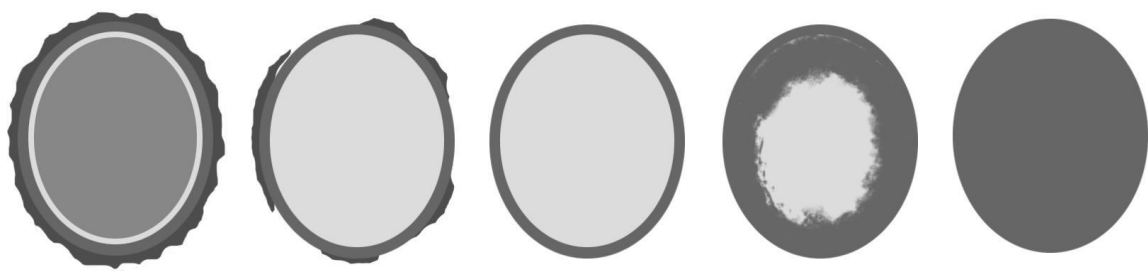


Figure 8 Schéma de la dégradation et de la minéralisation progressive d'un œuf du genre *Ascaris* (depuis un œuf frais à gauche, jusqu'à un œuf totalement minéralisé à droite). La coque externe tend à disparaître complètement de même que le contenu cellulaire. Le volume interne peut parfois être observé partiellement ou totalement comblé d'une néo-formation minérale. Dans le cas le plus extrême, tout à droite du schéma, de tels restes, s'ils ne sont pas observés avec des spécimens mieux préservés, ne peuvent que difficilement être interprétés comme des œufs d'*Ascaris* en l'absence de critères morphologiques d'identification suffisants.

Les limites du diagnostic microscopique

Ces caractères diagnostics ne permettent cependant que rarement l'identification spécifique des œufs observés. En effet, de nombreuses espèces d'helminthes produisent des œufs aux caractères semblables ou chevauchants, et seule l'identification générique est alors possible. C'est ainsi le cas des espèces de l'*Ascaris* du porc et de l'*Ascaris* des humains, respectivement *A. suum* et *A. lumbricoides*, dont les œufs, parfaitement identiques sous microscope, ne peuvent pas être distingués les uns des autres. Dans ce genre de situation, le contexte d'observation peut permettre d'orienter l'interprétation diagnostique, comme l'analyse de selles humaines ou de sédiments pelviens échantillonnés en contexte funéraire et pointant donc l'origine humaine des parasites. Cette hypothèse bien que parcimonieuse, n'en reste pas moins incertaine, d'autant plus considérant les données moléculaires actuelles d'une telle parasitose, ayant démontré l'existence de transmissions croisées (Søe *et al.*, 2016).

Dans d'autres cas, les valeurs morphométriques de deux taxons proches au sein d'un même genre peuvent se chevaucher. C'est le cas par exemple des œufs du genre *Trichuris*. Les œufs produits par les différentes espèces de ce genre ont en effet tous la même forme, et ne se distinguent éventuellement que par leurs dimensions respectives. Ainsi, si la distinction des *Trichuris* du bovin et du *Trichuris* humain ne posent pas de problème particulier au regard du grand écart de dimensions entre les œufs de chaque espèce, la distinction du *Trichuris* humain et du *Trichuris* du porc, respectivement *T. trichiura* et *T. suis*, peut être beaucoup plus problématique. Les dimensions de ces deux espèces se chevauchent fortement, et outre le contexte d'observation qui peut là encore orienter l'hypothèse diagnostique, l'observation et la mesure systématique d'un grand nombre d'œufs peut permettre de déterminer le taxon majoritaire dans un assemblage d'œufs de *Trichuris*.

Des méthodes inadaptées à la recherche d'helminthes anciens

Depuis le début du 20^{ème} siècle et les premières observations paléoparasitologiques faites par Marc Armand Ruffer (1910), la discipline s'est focalisée sur la recherche d'helminthes gastrointestinaux, impliquant le recours quasi systématique à la microscopie optique dans le but d'observer les formes de résistance de ces parasites. En 2020, soit un siècle après l'invention de la discipline, la microscopie reste l'approche la plus utilisée en paléoparasitologie au sens stricte (s'agissant de la recherche d'endoparasites eucaryotes), et continue donc de fournir l'essentiel des résultats de la communauté des paléoparasitologues. Cette approche trouve cependant ses racines méthodologiques dans diverses disciplines et s'est peu à peu raffinée afin d'optimiser ses rendements et de mieux prendre en compte les spécificités du matériel étudié.

En effet, tout comme pour la recherche d'acides nucléiques anciens, ou autres biorestes plus ou moins taphonomisés voire lithifiés, les œufs d'helminthes anciens ont subi un grand nombre d'altérations variées de leur composition et de leur structure. Ces altérations éloignent leurs propriétés à la fois de celles de leurs équivalents frais et modernes trouvés lors d'examen coprologiques des selles en contexte médical ou vétérinaire, mais également d'autres biorestes dont il pourrait intuitivement être pensé qu'ils en sont proches et devraient donc être étudiés de la même manière, comme des grains de pollen.

L'examen coprologique direct

L'examen direct des selles peut être pratiqué en contexte vétérinaire ou médical. Cette approche consiste à diluer une fraction de l'échantillon à analyser entre lame et lamelle et de procéder au diagnostic sans préparation supplémentaire. Une telle approche est particulièrement indiquée pour l'analyse de selles relativement liquides comme celles d'oiseaux ou de reptiles modernes (Fugassa, 2015). Elle a l'intérêt d'être extrêmement rapide et facile de mise en œuvre et de n'altérer en rien la structure des restes recherchés par l'ajout de réactifs ou de contraintes mécaniques comme le broyage des échantillons. Bien qu'occasionnellement appliquée en paléoparasitologie (Hidalgo Arguello, 2006), une telle approche n'est globalement pas indiquée au-delà des nécessités d'un diagnostic exploratoire rapide. En effet, la matrice des échantillons archéologiques, souvent riche de particules minérales à la granulométrie importante, contraint fortement l'observation entre lame et lamelle. De surcroît, l'absence de procédure de concentration et de lavage peut rendre très difficile l'observation de restes en présence d'une grande quantité de particules fines comme de l'argile.

Cette approche coprologique directe peut-être rapprochée de la méthode *squash* (Dainton, 1992) notamment employée par l'unité d'archéologie environnementale de l'Université de York. Cette méthode consiste à homogénéiser dans de l'eau 3 sous-échantillons de 3 mm de diamètre environ et collectés en différents points d'un plus grand ensemble. Une brève sédimentation spontanée est appliquée au sous-échantillon homogénéisé et une goutte est prélevée du surnageant et déposée entre lame et lamelle. Les micro-restes biologiques peuvent ainsi être observés sous microscope optique, dont les œufs de parasites. Cette méthode présente tous les avantages de l'examen coprologique direct décrits précédemment et évite le problème posé par les grains minéraux trop volumineux. Appliquée au-delà du simple diagnostic exploratoire comme pratiqué par l'Université de York, elle pourrait néanmoins passer à côté de taxons rares ou minoritaires, inégalement distribués sur le site d'où proviennent les sous-échantillons homogénéisés, ou dont les altérations taphonomiques comme une minéralisation avancée les ferait sédimenter plus vite que les autres œufs observés dans le surnageant (Dufour, 2015).

La sédimentation spontanée

Diverses techniques ont été appliquées avec succès dans la recherche d'œufs d'helminthes. Si la méthode *squash* n'implique qu'une sédimentation de quelques minutes tout au plus, la sédimentation spontanée complète est la première et la plus simple des méthodes de concentration des spécimens parasitaires. Cette méthode est directement héritée de la coprologie médicale et en particulier du protocole de Lutz (1919). Ce dernier présente l'intérêt certain d'être très peu coûteux mais n'opérant presque aucun tri dans la matrice analysée, rend la lecture des échantillons potentiellement difficile et ne permet pas d'optimiser la mise en solution de spécimens potentiellement emprisonnés dans une gangue sédimentaire à moins d'y associer des étapes surnuméraires de désagrégation.

La concentration diphasique

Les méthodes diphasiques de concentration parasitaire sont également héritées de la coprologie médicale, mais reposent initialement non pas sur la sédimentation ni la flottation, mais sur l'élimination d'une partie de la matrice par traitement chimique de l'échantillon analysé (Bailenger, 1966). Ces protocoles, dérivés de la méthode acide chlorhydrique-éther de Télémann (1908), ont rapidement eu pour but de pallier les limites de la technique initiale qui avait notamment pour inconvénient de dégrader certains éléments d'importance diagnostique, notamment par l'action de l'acide chlorhydrique, qui a été remplacé par le formol dans la méthode Ritchie (1948). Ses différentes formulations consistent à désagréger un échantillon coprologique dans une solution de deux réactifs non miscibles formant deux couches distinctes respectivement hydrophile et lipophile. Les éléments constitutifs de l'échantillon coprologique mis en solution se répartissent alors selon le gradient de leur balance hydrophile-lipophile, et selon lequel les œufs d'helminthes à tendance hydrophile tendent à rejoindre la phase aqueuse au fond de laquelle ils tombent pour se concentrer dans le culot de l'échantillon, alors que les débris lipophiles tendent à se concentrer dans l'anneau d'interphase au-dessus de la phase aqueuse (Bailenger, 1966). Cette méthode a notamment été testée en contexte paléoparasitologique par Horne et Tuck (1996) sur des échantillons provenant de latrines nord-américaines, mais Reinhard et collègues (1985) lors de leurs tests de concentration diphasique *versus* sédimentation spontanée ont remarqué que cette dernière obtenait de meilleurs résultats.

La flottation

La flottation est une méthode héritée à la fois de la parasitologie médicale et de la palynologie. Cette procédure consiste à mettre à profit la densité relative des spécimens parasitaires par rapport à la solution utilisée et où celle-ci est plus dense que les parasites. Une lamelle est alors placée au contact de la surface de la solution de flottation de sorte à ce qu'après un temps variant de 15 à 120 minutes sans centrifugation additionnelle, les restes de parasites adhèrent à la surface de la lamelle. Cette dernière peut alors être retirée, placée sur une lame, et observée sous microscope. Cette approche présente plusieurs désavantages importants. D'abord la densité des œufs ou des kystes recherchés varie et nécessite donc des préparations différentes afin de rendre compte de la diversité parasitaire contenue dans l'échantillon. Il faut ainsi prévoir deux solutions séparées afin de rechercher d'une part les nématodes et cestodes à l'exception des œufs de *Metastrongylus*, par exemple en solution de sulfate de magnésium saturé (densité 1.28 à 15°C), et d'autre part une solution destinée aux trématodes et œufs de *Metastrongylus* par exemple en solution de sel de zinc (densité 1.53 à 15°C) (Thienpont *et al.*, 1979). Ensuite, en contexte de coprologie médicale, la densité des réactifs utilisés tend à déformer les œufs, notamment operculés et volumineux. Cela peut être d'autant plus préjudiciable en contexte paléoparasitologique où les spécimens recherchés sont déjà potentiellement très taphonomisés, nuisant d'autant plus à leur identification et même à leur conservation. Enfin, les œufs anciens peuvent avoir changé de densité au cours du processus diagénétique, et les réactifs utilisés doivent alors être ajustés en conséquence. Différentes solutions ont ainsi été testées sur échantillons paléoparasitologiques afin de tenir compte de ces spécificités (Reinhard *et al.*, 1988 ; Bouchet *et al.*, 1999 ; Dommelier-Espejo, 2001).

Différentes techniques peuvent être utilisées de manière séquentielle de sorte à pallier les limitations de chacune d'elles et de retrouver le maximum de biodiversité dans l'échantillon analysé (Navone *et al.*, 2005). Comme noté par Fugassa (2014), cela ne peut s'envisager aisément en contexte archéologique dans le cas où les volumes d'échantillons bruts seraient limités. Bouchet et collègues (2001) a ainsi proposé d'analyser la surface des solutions de flottation ainsi que la matrice spontanément sédimentée au fond du récipient de flottation afin de ne pas consommer deux fois plus de volume de sédiment. Cette option a cependant l'inconvénient de nécessiter une mise en œuvre plus contraignante. Il pourrait alors être argumenté que la sédimentation pratiquée seule, limite l'altération des spécimens recherchés sans biaiser la diversité taxonomique de l'échantillon tout en étant très simple de mise en place.

La palynologie

Les méthodes issues de la palynologie peuvent associer la concentration chimique et l'acétolyse à la flottation. En effet, celle-ci permet de rendre la structure des grains de pollen plus visible sous microscope par la dissolution de leur contenu. L'utilisation d'acides et de bases permet d'éliminer séquentiellement les minéraux et une partie des restes organiques de l'échantillon. Aux écueils précédemment observés concernant la flottation et la déformation engendrée des œufs de parasites déjà fragilisés, ce type de méthode peut par ailleurs être rendue d'autant plus agressive par l'utilisation d'acides comme l'acide chlorhydrique. Il a par exemple été montré que l'acétolyse détruisait les œufs d'*A. lumbricoides* modernes (Reinhard *et al.*, 1988).

Efficacité du protocole RHM

Au regard de la diversité de méthodes employées et donnant toutes plus ou moins de résultats lorsqu'appliquées en paléoparasitologie, Dufour (2015) a standardisé le protocole RHM de sorte à en comparer les résultats en termes de biodiversité et de nombre de restes observés *versus* différentes associations de réactifs notamment utilisés en palynologie. Il a aussi comparé dans le protocole RHM l'emploi de réactifs de réhydratation *versus* eau distillée seule ainsi que l'apport du tamisage micrométrique.

En contrôlant strictement les volumes de matériel analysés et en quantifiant les résultats par la méthode Stoll modifiée et utilisée en paléoparasitologie (Fugassa *et al.*, 2006), il a ainsi comparé les rendements de différents traitements chimiques incluant l'acide chlorhydrique (HCl), l'acide fluorhydrique (HF), et la soude (NaOH) utilisés seuls ou en combinaison, ainsi que l'usage de TSP et de glycérol ou d'eau distillée seule pour la réhydratation. Il a ainsi montré sur l'échantillon utilisé (sédiment provenant d'un puits du 7^{ème}-9^{ème} siècle de notre ère du site de Mas de Vignoles près de Nîmes), que la méthode RHM permettait d'observer le maximum de diversité parasitaire contre toutes les combinaisons d'acides et de bases testées. Les méthodes employant de la soude tendaient de surcroît à diminuer le nombre d'œufs observés, alors que certains réactifs avaient un effet délétère sur des classes de taxons en particulier (les trématodes), faussant ainsi la diversité parasitaire observée. Si l'emploi d'acide chlorhydrique seul a obtenu des résultats presque équivalents à ceux du protocole RHM en termes de biodiversité, il a toutefois été mis en évidence que l'emploi d'acides modifiait significativement la taille des œufs observés à la baisse, et pouvait donc fausser leur détermination taxonomique.

A contrario, la méthode RHM qui présentait le maximum de biodiversité, ne montrait pas de différence significative dans la taille des œufs observés avec ou sans réactifs de réhydratation (TSP et glycérol vs. eau distillée seule), montrant que ceux-ci n'altéraient pas la structure des œufs et *a fortiori* le diagnostic. Cependant, l'effet bénéfique des défloculants a été mis en évidence par la difficulté à faire passer la matière à travers les mailles micrométriques des tamis en l'absence de réactifs de réhydratation autres que l'eau distillée seule. Par ailleurs, l'effet bénéfique de la colonne de microtamisage a été montré par l'absence d'œufs dans le filtrat obtenu en sortie de colonne, et par le plus grand confort de lecture microscopique permis par l'emploi d'une maille 50 µm et donc la séparation de particules d'intervalle 25 µm – 50 µm et 50 µm – 160 µm.

En somme, s'il a été observé que l'emploi de bases et d'acides diminuait bien la taille et la proportion des restes organiques et minéraux dans les échantillons, ce qui pouvait en faciliter l'examen, les biais taxonomiques et morphométriques induits par l'emploi de réactifs agressifs semblent dommageable aux analyses paléoparasitologiques pour lesquelles l'emploi de réactifs relativement neutres n'altérant pas la structure des œufs et n'opérant pas de sélection taxonomique est à privilégier. Le protocole RHM, qui évite ces biais mais aussi ceux de la flottation tout en conservant un grand confort de lecture par le microtamisage et la séparation des fractions de sédiment analysées devrait donc être préféré pour les études entendant spécifiquement rechercher des œufs d'helminthes. Enfin, cette méthode évite l'emploi de produits dangereux comme l'acide fluorhydrique et épargne donc leur manipulation sous sorbonne (Dufour, 2015).

Protocole suivi

Protocole de microscopie optique

Le protocole RHM (Réhydratation – Homogénéisation – Micro-tamissage) a été appliqué pour la préparation des échantillons en vue de la recherche de formes de résistance parasitaire (œufs et kystes) sous microscope optique (**Figure 9**). Ce protocole permet d'extraire les spécimens recherchés de leur matrice sédimentaire et d'en faciliter l'observation tout en limitant les dégradations supplémentaires qui pourraient être occasionnées à des spécimens biologiques déjà fortement taphonomisés (Dufour et Le Bailly, 2013).



Figure 9 Les différentes étapes du protocole RHM pour la concentration et l'extraction d'œufs d'helminthes gastro-intestinaux, depuis des échantillons de sédiment bruts jusqu'à l'obtention de fractions à la granulométrie contrôlée.

Réhydratation

Ainsi, pour chaque échantillon, 5 gr de matériel ont été réhydratés en solution aqueuse additionnée de phosphate trisodique à 0,5% et de glycérol à 5%. Quelques gouttes de formol à 10% ont été ajoutées afin d'éviter le développement fongique et bactérien qui pourrait nuire aux observations microscopiques. Les propriétés hygroscopiques et défloculantes des produits utilisés permettent de faciliter la mise en solution des spécimens recherchés tout en évitant leur dégradation additionnelle comme il peut être observé lors de l'utilisation de produits à l'acidité ou à la basicité plus marquées, et *a fortiori* plus agressifs.

Homogénéisation

Les échantillons réhydratés sont ensuite broyés individuellement dans un mortier, et le broyat obtenu placé dans une cuve à ultrasons à 50/60 Hz pendant une minute. Cette phase permet l'homogénéisation de la matrice et la désagrégation complète de l'échantillon.

Micro-tamissage

Enfin, les échantillons réhydratés et homogénéisés sont passés sous un flux d'eau à travers une colonne de quatre tamis à maillage calibré micrométrique. Les mailles de ces tamis présentent du haut vers le bas de la colonne un espacement de 315, 160, 50 et 25 μm respectivement. Seuls les refus de tamis des mailles 50 et 25 μm sont conservés puisqu'ils doivent concentrer les spécimens recherchés dont la taille varie globalement de 25 à 160 μm selon les espèces. Il ne s'agit cependant que de la variabilité de tailles des œufs d'helminthes gastro-intestinaux les plus courants, les kystes de protozoaires pouvant être eux, beaucoup plus petits. Ces derniers ne pourront donc être observés que fortuitement lors de l'examen microscopique. De surcroît le manque de spécificité de leurs formes et leur petitesse ne faciliteront pas leur reconnaissance, et il faudra donc déployer d'autres méthodes diagnostiques à la recherche spécifique d'unicellulaires gastro-intestinaux.

Observation microscopique

Après 24 h de sédimentation, les refus de tamis peuvent être observés sous microscope optique. Douze lamelles (22 x 22 mm) sont alors observées par échantillon préparé, soient six lamelles par fraction de sédiment (25 et 50 μm). Chaque lamelle fait l'objet d'un balayage visuel systématique d'un bord à l'autre au grossissement 200x, et les déterminations taxonomiques aux grossissements 400x ou 600x. Les spécimens observés sont comptés, photographiés, mesurés, enregistrés et décrits, ainsi que les autres éléments notables du paysage microscopique (sclérites d'arthropodes, grains de pollen, diatomées, autres débris végétaux et animaux...).

La paléogénétique

Depuis la recherche de paléobiomolécules : protéines et lipides

L'émergence de la paléogénétique s'inscrit dans la continuité des analyses biomoléculaires appliquées à des échantillons anciens, généralement archéologiques ou muséaux. Ces analyses regroupent une large diversité de méthodes et de problématiques allant des sciences de l'évolution, de la conservation, de l'environnement, et évidemment, aux sciences archéologiques. Il est ainsi possible de citer parmi les travaux pionniers en la matière, ceux de William et Lyle Boyd de l'université de Boston, qui ont constaté dès 1933 que les anticorps se liant alors à des antigènes de tissus modernes pouvaient également se lier à ceux de tissus anciens, notamment momifiés. Ils ont ainsi étudié les groupes sanguins chez de nombreuses momies égyptiennes et américaines (Smith, 1960). Les années 70 ont quant à elles vues l'émergence de la recherche de lipides anciens et leur essor dans le courant des années 90 avec l'adaptation des méthodes à des échantillons spécifiquement anciens, et *a fortiori* à la recherche de molécules fortement diluées et partiellement dégradées (Brown et Brown, 2011). Le problème de la dégradation moléculaire, bien plus important pour les acides nucléiques, n'allait pas aller sans poser de problème à l'émergence de la recherche d'ADN ancien (ADNa) à partir de la fin des années 80.

De la paléogénétique théorique à la recherche d'acides nucléiques anciens

La plus ancienne mention de la paléogénétique à notre connaissance peut être attribuée à Linus Pauling et Emile Zuckerkandl dans leur article de 1963 intitulé « *Chemical Paleogenetics, Molecular « Restoration Studies » of Extinct Forms of Life* » publié dans la revue *Acta Chemica Scandinavica*. Dans cet article, Pauling et Zuckerkandl proposent de comparer la structure de chaînes polypeptidiques homologues d'organismes actuels afin d'en reconstituer les formes ancestrales, et discutent des applications d'une telle approche en science de l'évolution et en paléobiochimie. Si les auteurs ne définissent pas ce qu'ils appellent alors « paléogénétique », il n'en demeure ici pas moins une proposition de reconstituer les ancêtres théoriques de gènes actuellement connus (en 1963) par le biais de leurs acides aminés. Il faudra attendre deux décennies pour que l'idée et son application, de retrouver directement de véritables molécules d'ADN ancien émergent, à nouveau dans la littérature.

Cette possibilité théorique, non pas de reconstituer des gènes ancestraux, mais de retrouver de véritables molécules conservées d'organismes anciens, était rendue crédible notamment par l'observation d'organelles parfaitement préservées sous microscope électronique comme dans les cellules d'un arthropode piégé dans de l'ambre de la Baltique de la jonction Oligocène-Eocène, soit environ 40 millions d'années (Poinar et Hess, 1982). Bien que cela ne soit alors pas clairement proposé dans un tel article, l'observation distincte de noyaux cellulaires de l'épiderme remarquablement conservés, ainsi que d'autres structures cellulaires, laissait en effet penser qu'il serait également possible d'observer d'anciennes molécules d'ADN extraites de spécimens anciens aussi bien préservés. La recherche en paléogénétique, alors inexistante, allait cependant montrer à l'avenir que la préservation structurelle des tissus paléobiologiques n'est pas nécessairement corrélée positivement à la préservation des acides nucléiques.

La première détection d'un fragment d'ADNa a cependant été faite sur un spécimen beaucoup plus récent. En 1984, Russell Higuchi et ses collègues ont en effet extrait et cloné une portion d'ADN mitochondrial des tissus musculaires d'un spécimen muséologique de *Quagga (Equus quagga)*, une espèce d'équidé partiellement zébrée d'Afrique du Sud et alors éteinte depuis 1883 (Higuchi *et al.*, 1984). Dès cette publication, la spécificité première de l'ADN ancien consistant en de très courtes séquences avait été remarquée, puisque les fragments n'excédaient alors pas 229 pb.

L'invention de la PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dans les années 80 (Mullis *et al.*, 1986), qui permet d'amplifier en millions de copies une très petite quantité initiale de molécules d'ADN contenues dans un produit d'extraction, a permis de rendre définitivement réaliste la généralisation de telles recherches.

Si les premiers résultats avaient été obtenus par clonage sur des échantillons relativement récents à l'échelle des temps géologiques, notamment l'ADN humain extrait d'une momie égyptienne datée de 2400 ans (Pääbo, 1985 ; mais il s'avera par la suite qu'il s'agissait probablement là d'une contamination), Higuchi proposait dès 1984 l'éventualité d'obtenir des fragments beaucoup plus anciens, âgés de millions d'années. Par la suite, une grande quantité d'études ont été produites affirmant avoir amplifié l'ADN de spécimens toujours plus anciens. Ainsi, dès 1990 des études ont notamment prétendu avoir amplifié l'ADN de feuilles de magnolia extraites des sédiments lacustres de *Clarkia* dans l'Idaho et datées de 17 millions d'années, ou celui d'un os de dinosaure daté de 80 millions d'années (Golenberg *et al.*, 1990 ;

Woodward, 1994). En 2000 encore, une étude prétendait avoir amplifié l'ADN bactérien piégé dans des cristaux de sel du Nouveau Mexique datés de 250 millions d'années et que les bactéries anciennes étaient encore cultivables (Vreeland *et al.*, 2000).

Pourtant, dès 1993, des travaux sur la dégradation de l'ADN laissaient peu d'espoir sur la possibilité de découvrir des séquences plus anciennes que quelques centaines de milliers d'années et, le cas échéant, de pouvoir les amplifier (Pääbo *et al.*, 1991 ; Lindahl, 1993). En 1995, une publication a mis en évidence que la séquence de dinosaure découverte un an auparavant était en fait une séquence mitochondriale humaine incorporée au génome nucléaire, ce qui avait leurré les auteurs de l'article initial en les poussant à interpréter cette séquence inconnue comme celle du dinosaure, alors qu'il s'agissait de celle de l'un des personnels ayant manipulé le fossile (Zischler *et al.*, 1995). Durant les années qui suivirent, la mise à l'épreuve de ces différentes publications a conclu dans le cas des plus sensationnelles à des pollutions modernes ou à l'impossibilité de reproduire les résultats d'une quelconque façon (Sidow *et al.*, 1991). En dépit des conditions de laboratoire strictes qui avaient pourtant déjà été mises en place dans certaines de ces études réfutées, cette époque a permis de mettre en évidence l'extrême difficulté à étudier l'ADN ancien et les spécificités de ce matériel comparé à de l'ADN moderne. Il devenait nécessaire de pouvoir contrôler et répliquer strictement au moins les affirmations les plus sensationnelles (Nicholls, 2005).

En 2007, les plus anciennes séquences fiables étaient extraites de carottes de glaces du Groenland datées de 450 000 à 800 000 ans (Willerslev *et al.*, 2007). De nouveaux travaux cherchant à estimer, sur la base d'une série subfossile d'os de Moa, le taux de dégradation de l'ADN ancien, suggéraient en 2012 que si des séquences âgées de 80 millions d'années étaient hautement improbables, on pouvait néanmoins s'attendre dans le futur à obtenir des séquences excédant le million d'années dans des conditions très favorables de type permafrost (Allentoft *et al.*, 2012). L'année suivante, Ludovic Orlando et ses collègues publiaient le génome complet d'un équidé sibérien daté de 560 000 à 780 000 ans, repoussant ainsi sensiblement les limites initialement estimées de la conservation de l'ADNa (Orlando *et al.*, 2013). Plus récemment encore, ce sont les séquences de mammoths datées de 1 million d'années qui ont pu être obtenues (van der Valk *et al.*, 2021).

La recherche de pathogènes

L'étude des pathogènes a très tôt été envisagée au travers de l'ADN ancien, en offrant la possibilité de détecter des organismes ne laissant que peu ou pas de signes pathologiques spécifiques sur des restes osseux. De nombreux travaux ont porté sur l'agent de la tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis* (Nerlich *et al.*, 1997 ; Crubézy *et al.*, 1998 ; Bos *et al.*, 2014), mais aussi de la peste (Drancourt *et al.*, 1998 ; Bos *et al.*, 2011), ou de la lèpre (Rafi *et al.*, 1994 ; Schenemann *et al.*, 2013).

Les premières recherches paléogénétiques concernant les parasites eucaryotes confirmées par séquençage ont été produites au début des années 2000. En effet, Loreille et ses collègues ont d'abord étudié une série de paleofèces de Namur en Belgique et datés de l'époque médiévale. Des œufs du genre *Ascaris* ont d'abord été identifiés sous microscopie optique, puis une centaine d'entre eux ont été isolés afin d'en extraire l'ADN. Les produits d'extraction séquencés ont permis de confirmer la présence d'œufs de nématodes du genre *Ascaris* sp. et *a fortiori* la possibilité d'étudier les restes anciens de ces parasites ovipares dans une approche intégrée en microscopie et en biologie moléculaire (Loreille *et al.*, 2001). Dans le même temps, Madden et ses collègues ont pu détecter l'ADN du protozoaire *Trypanosoma cruzi*

dans les tissus de momies chiliennes âgées de 2000 ans et provenant du désert d'Atacama où la dessiccation des corps inhumés se produit naturellement du fait de l'environnement hyper aride de cette région (Madden *et al.*, 2001).

Depuis ces premiers travaux, une vingtaine d'études ont été produites en paléoparasitologie moléculaire (Côté et Le Bailly, 2017). La distribution chrono-géographique de ces études est relativement variée : Égypte ancienne (Zink *et al.*, 2006 ; Nerlich *et al.*, 2008 ; Khairat *et al.*, 2013 ; Lalremruata *et al.*, 2013), Amérique post et pré-contact (Madden *et al.*, 2001, Fernandez *et al.*, 2008 ; Leles *et al.*, 2008 ; 2014, Ghul *et al.*, 2014), Asie du Sud-Est (Liu *et al.*, 2007 ; Oh *et al.*, 2010 ; Shin *et al.*, 2013) et Europe (Loreille *et al.*, 2001 ; Botella *et al.*, 2010 ; Sjøe *et al.*, 2015 ; Myskova *et al.*, 2014, Panzer *et al.*, 2014 ; Côté *et al.*, 2016, Flammer *et al.*, 2018). Elles ont en outre permis de mettre en évidence une grande diversité taxonomique incluant d'importants agents pathogènes de l'espèce humaine encore actuels, notamment le *Plasmodium* (Nerlich *et al.*, 2008 ; Lalremruata, 2013), mais également des helminthes tels que l'*Ascaris* (Loreille *et al.*, 2001 ; Botella *et al.*, 2010), le *Trichuris* (Appelt *et al.*, 2014 ; Myskova *et al.*, 2014) ou des trématodes du genre *Fasciola* (Sjøe *et al.*, 2015), *Clonorchis* (Shin *et al.*, 2013) ainsi que le cestode *Diphyllobothrium* (Côté *et al.*, 2016). Si la plupart de ces approches se sont basées jusqu'à présent sur la recherche de quelques parasites ciblés par PCR et séquencés par la méthode Sanger, une minorité a porté sur la recherche d'une large diversité parasitaire appuyée par le séquençage nouvelle génération (NGS), comme l'étude de Nathalie Côté et ses collègues qui a impliqué le *design* d'amorces capables de discriminer 16 espèces d'helminthes gastrointestinaux dont 9 ont ainsi été identifiées lors de l'étude de 14 sites archéologiques distribués du Néolithique à l'époque contemporaine (Côté *et al.*, 2016).

Depuis le milieu des années 2010 en particulier, ces études en paléoparasitologie moléculaire ont à plusieurs reprises montré l'intérêt et l'efficacité des recherches intégrées impliquant à la fois la détection des formes de résistance des helminthes ovipares sous microscopie optique, et la détection de leurs acides nucléiques confirmée par séquençage (Cleeland *et al.*, 2013). Dans certains cas par exemple, l'étude conjointe de ces différents marqueurs peut fortement amplifier les résultats obtenus par une méthode seule, comme dans les cas des infections parasitaires des occupants d'un cimetière de Rio de Janeiro et daté du 18^{ème} siècle. Quatre parasites gastrointestinaux avaient été ciblés ici par le *design* de sondes destinées à capturer les séquences spécifiques de ces parasites. Alors qu'un seul individu avait révélé des œufs du genre *Ascaris*, 4 individus supplémentaires ont fourni la séquence de ce nématode, faisant passer la fréquence de détection de 10 à 40 % (l'individu positif en microscopie ne l'a pas été pour l'ADN). Inversement, alors que 7 individus livraient des œufs du genre *Trichuris*, seuls 4 étaient positifs pour l'ADN de ce nématode. Dans le cas d'*Enterobius vermicularis*, pour lequel des sondes avaient été utilisées mais aucun œuf observé, l'approche moléculaire a permis de le détecter chez 5 individus, soit 50 % des 10 individus étudiés. Au final, la fréquence des parasitoses obtenue par l'approche conjointe est nettement supérieure à celle obtenue sous l'une des deux méthodes employées seule. Dans le cas de l'ascaridiose, presque absente en microscopie, la plupart des cas sont révélés par l'approche moléculaire, alors que l'inverse est observé concernant la trichocéphalose. Dans le cas de l'oxyurose humaine (*E. vermicularis*), l'approche moléculaire permet non seulement de faire apparaître la parasitose dans la population, mais en plus de montrer une forte fréquence parmi celle-ci (Jaeger *et al.*, 2014).

Si les aspects techniques de la recherche d'ADNa pratiquée au cours de ce travail seront développés *infra*, nous mentionnons ici quelques principes généraux. L'étude de l'ADNa *per se* reste fortement marquée par la dégradation des acides nucléiques après la mort de l'organisme, contrairement à l'étude d'ADN extrait d'échantillons frais. La dégradation de l'ADN peut conduire à l'altération des bases qui le composent et *a fortiori* aux séquences qui seront amplifiées lors de la PCR (Figure 10). Connaître les mécanismes conduisant à ces différents types d'altérations permet de les prendre en compte lors de la mise en place d'un plan expérimental à la recherche d'ADNa. Ces spécificités sont passées en revue ci-dessous.

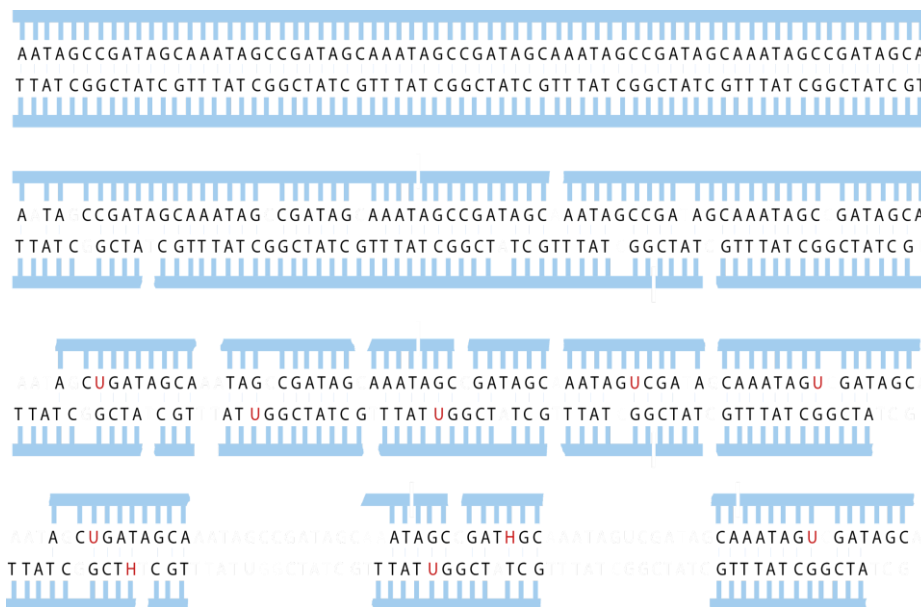


Figure 10 Dégradation progressive d'une molécule d'ADN après la mort cellulaire. La flèche du temps s'écoule ici de haut en bas. Les altérations touchant le squelette de la molécule se multiplient, ainsi que les pertes ou altérations de bases, et aboutissent à une fragmentation de plus en plus importante de la molécule initiale.

Les facteurs de dégradation des molécules anciennes

Trois groupes de facteurs peuvent être distingués : l'autolyse, l'activité microbienne, et les facteurs environnementaux.

L'autolyse

L'autolyse s'installe dès la mort de l'organisme et de la cellule à l'intérieur de laquelle l'ADN se trouve. Les parois cellulaires s'effondrent, libérant ainsi les enzymes digestives endogènes qui n'entrent normalement pas en contact avec les autres constituants de la cellule.

Chez les animaux, ces enzymes sont en effet séquestrées dans de petites vacuoles du vivant de la cellule, elles-mêmes distribuées dans tout son cytoplasme. Les enzymes ont une action lytique sur les molécules exogènes, contrôlée par la cellule, notamment pour des fonctions nutritionnelles ou de défense en détruisant des bactéries invasives. Ces réactions lytiques qui ne sont plus contrôlées à la mort de l'organisme, aboutissent à l'autodégradation de la cellule

par la libération de ses propres enzymes digestives. On s'attend dès lors à ce que tout facteur environnemental influençant l'activité enzymatique à la baisse soit propice à la conservation de l'ADN ancien.

L'ADN est par la suite sujet aux contraintes environnementales du lieu où est mort l'organisme. Ces contraintes peuvent être d'ordre chimique ou physique. Les contraintes chimiques impliquent en premier lieu l'eau et l'oxygène, causes de l'hydrolyse et de l'oxydation des brins d'ADN. Les contraintes physiques impliquent les radiations cosmiques, ultraviolettes, ou géologiques, mais aussi la température qui peut influencer à la hausse ou à la baisse les réactions de dégradation causées par d'autres facteurs.

Différents environnements aux contraintes chimiques et physiques variées pourront avoir différents types d'effets sur la conservation de l'ADN : les milieux désertiques chauds propices à la dessiccation des spécimens pourront réduire l'action de l'hydrolyse, alors que les milieux anoxiques comme les tourbières pourront réduire l'oxydation, et les milieux froids comme le permafrost pourront réduire l'action enzymatique.

Cette action enzymatique n'est par ailleurs pas limitée à l'autolyse cellulaire, mais est également produite par l'activité microbienne de l'environnement où se dégrade l'organisme mort. Ces organismes procurent effectivement une source d'énergie et de nutriments aux bactéries qui sécrètent différents types d'enzymes afin d'absorber ces ressources. La sécrétion de nucléase, en ce qui concerne l'ADN, est particulièrement préjudiciable, bien que cette activité enzymatique ne soit pas aussi importante que celle observée lors de l'autolyse. L'importance de cette activité microbienne dépend de la microflore en présence, et des conditions environnementales qui peuvent avoir un impact sur l'activité microbienne.

L'hydrolyse

L'hydrolyse est la plus importante cause de dégradation de l'ADN par la fragmentation des polynucléotides qu'elle provoque. En effet, les brins d'ADN ancien amplifiés par PCR n'excèdent que rarement les 300 pb, bien que les produits d'amplification puissent également être restreints en longueur par des mécanismes autres que les lésions hydrolytiques.

L'eau entre particulièrement en réaction avec les liaisons β -N-glycosidiques entre les bases azotées de la chaîne d'ADN et leur sucre. Cette lésion provoque la libération de la base concernée et la création de sites dits abasiques (appelés *nicks*). Les bases G et A sont 20 fois plus touchées par ces lésions que les bases C et T. A ce stade le brin d'ADN n'est pas encore fragmenté, mais fragilisé par l'exposition du sucre dès lors sujet aux réarrangements chimiques qui aboutiront par la suite au clivage du brin au niveau du site abasique ainsi créé. Du fait de la nature double-brin de la molécule d'ADN, un site abasique sur un seul de ses brins ne peut pas aboutir à sa fragmentation complète, entendu comme sa division en plusieurs séquences double-brins séparées. Pour ce faire, l'apparition de sites abasiques devra se poursuivre jusqu'à ce que deux sites apparaissent en vis-à-vis ou quasi vis-à-vis sur les deux brins d'une même molécule d'ADN, jusqu'à la dégradation des sucres et la rupture du double-brin. Cette fragmentation peut également être occasionnée par la rupture des liaisons phosphodiester entre deux acides phosphoriques constituant le squelette de la molécule. De fait, il est théoriquement possible que des brins d'ADN anciens de plusieurs kilobases soient préservés, mais que ce soit notamment l'étape de dénaturation lors de leur amplification qui provoque leur dernière fragmentation. La réparation de ces molécules lésées par le colmatage

de leurs *nicks*, notamment à l'aide de lygase, est donc une problématique essentielle de la facilitation de l'étude de l'ADN ancien (Brown et Brown, 2011).

Les lésions bloquantes

Les lésions bloquantes regroupent toutes les altérations susceptibles d'entraver la progression des polymerases le long des brins d'ADN lors de leur amplification. À ce titre, les *nicks* décrits précédemment peuvent être considérés comme des lésions bloquantes, à ceci près que ceux-ci aboutissent généralement à la fragmentation des brins et ne perdurent pas assez longtemps pour être une cause importante d'entrave des polymérase.

Ces lésions bloquantes apparaissent également du vivant de la cellule comme l'oxydation des bases décrite *infra*, mais celles-ci sont réparées la plupart du temps par la machinerie cellulaire. Cette machinerie n'étant plus opérante après la mort de la cellule comme nous l'avons vu avec l'autolyse, les lésions bloquantes de l'ADN qui ne sont plus réparées s'accumulent alors le long des brins. Les plus courantes d'entre elles sont certainement dues à l'oxydation opérant sur les bases puriques et pyrimidiques ainsi que sur leurs sucres. Cette oxydation est majoritairement provoquée non pas par l'oxygène en lui-même au pouvoir oxydatif assez limité, mais par ses dérivés provoqués notamment par les radiations ionisantes telles que le rayonnement cosmique ou géologique. Il peut s'agir de peroxydes d'hydrogène (H₂O₂) ou de radicaux libres hydroxyles (•OH) dont les réactions avec les composants de l'ADN peuvent aboutir à différents types de lésions comme la saturation des anneaux qui voit le remplacement de liaisons doubles par des liaisons simples conduisant à l'ouverture des anneaux des bases puriques et pyrimidiques concernées. L'oxydation peut également toucher les ponts carbones 2' - 3' des sucres provoquant également leur ouverture et plus rarement le clivage du brin.

Des lésions bloquantes plus importantes peuvent être observées comme la formation de dimères entre des bases puriques de brins opposés, ou la formation de produits de Maillard entre les sucres et des acides aminés aboutissant à la liaison de peptides aux brins d'ADN qui entraveront la progression de la polymérase *Taq* par la suite (dans le cas de l'emploi de la *Taq*). Les produits de Maillard sont issus de la décomposition des matières organiques et sont donc très susceptibles de se former en contexte archéologique, et *a fortiori* d'être une entrave importante à l'amplification d'ADN ancien. Il a été proposé d'optimiser en conséquence la phase de purification de l'ADN par l'ajout de PTB (*N*-phenacylthiazolium bromide) du fait de sa capacité à briser les liaisons sucre-protéines des produits de Maillard.

Lésions miscodantes

Ce type de lésions n'aboutit pas au blocage de l'activité des polymérase mais à la production d'erreur de copie par celles-ci lors de l'amplification.

La plus courante de ces lésions est la désamination par la perte de leur groupement amine (-NH₂) des bases C donnant une base U. Lors de son premier cycle d'amplification, le brin lésé portant l'Uracile pourra être associé à une base A par la *Taq* polymérase, et ce nouveau brin portant une base A sera en conséquence lui-même associé à une base T au cycle suivant, conduisant donc à une erreur de copie de type, C vers T, notée C→T. De la même manière, la

base initialement appariée à l'Uracile, une base G, maintenant appariée à une base T, sera au cycle suivant, associé à une base A, erreur notée G→A.

L'erreur de copie de type C→T ou G→A peut de surcroît concerner les bases 5-méthylcytosines. L'ajout de ce groupement méthyl (-CH₃) au cinquième carbone des cytosines, donnant une 5-méthylcytosine chez 10 à 30 % des bases C de l'ADN nucléaire, permet à une cellule vivante de marquer ces bases dans le cadre de plusieurs fonctions, notamment la réduction au silence de certains gènes dans les tissus où ils ne doivent pas être actifs. Les bases 5-méthylcytosine s'apparient aux bases G, mais sont sensibles à la désamination. De fait, la désamination des cytosines et des 5-méthylcytosines peut provoquer une accumulation notable des erreurs de copies du type que nous venons de citer et nuire à la fiabilité des séquences finalement observées. Tout comme des séquences courtes, la désamination et le déficit de bases C'est une marque caractéristique de l'ADN ancien.

Si l'Adénine peut être désaminée en hypoxanthine et donner lieu à l'erreur de copie A→G (l'hypoxanthine s'appariant naturellement avec la Cytosine), cette erreur de codage est toutefois beaucoup moins fréquente que la désamination de la Cytosine (de l'ordre de 2 à 3 % du taux de désamination de la Cytosine). La Guanine qui peut être désaminée en xanthine ne produit pas d'erreur de copie puisque cette dernière s'apparie toujours avec une Cytosine, comme elle l'aurait fait si elle n'avait pas été désaminée. La Thymine qui ne comporte pas de groupe amine ne peut quant à elle pas être désaminée et ne produit pas ce type d'erreur de copie.

Les contraintes techniques liées à la recherche d'ADN ancien

La recherche d'ADN ancien, du fait des altérations qui le caractérisent et vues *supra*, présente certaines contraintes techniques absentes de la recherche d'ADN moderne.

En effet, la mise en évidence d'ADNa est largement dépendante de la technique de la PCR qui implique la copie en millions d'exemplaires des séquences d'ADN cibles recherchées. La PCR est *per se* extrêmement sensible, et est capable de fournir des produits d'amplification avec moins de 100 molécules de départ dans un produit d'extraction. Elle en devient donc sensible à toute contamination de l'échantillon qui pourrait voir, par hasard, une molécule non cible hybridée au premier cycle de PCR et par la suite amplifiée en millions de copies à la place de la séquence ciblée qui se trouverait noyée dans les copies de la contamination. Dans le même temps, l'ADNa est caractérisé par la très faible longueur de ses séquences et leur altération. Dans ces conditions, la PCR aura d'autant plus tendance à multiplier les molécules modernes, volumineuses et parfaitement lisibles, qui se trouveraient dans un échantillon contaminé, ceci au détriment des séquences anciennes.

Le problème de la contamination se pose également vis-à-vis des séquences anciennes non cibles. Il peut par exemple s'agir de la percolation d'ADNa à travers des couches archéologiques. La détection de telles séquences, authentiquement anciennes, conduirait néanmoins à une erreur de datation importante dans le cas où ces couches représentaient des événements bien distincts.

De la mort de l'organisme à la recherche de son ADN ancien, un certain nombre d'étapes ont été identifiées comme particulièrement propices à la contamination :

- l'enfouissement des restes : en contexte funéraire, les rites peuvent impliquer des manipulations et la mise en contacts de différents individus.
- après l'enfouissement : l'ADN peut migrer à la faveur des processus diagénétiques dans le sol.
- lors de la fouille : la manipulation par tous les personnels en contact avec les spécimens étudiés provoque inévitablement la contamination des échantillons par de l'ADN moderne.
- dans le laboratoire : des produits d'amplifications précédentes peuvent contaminer des échantillons nouvellement préparés pour la PCR. Les différents réactifs utilisés peuvent en outre être contaminés par de l'ADN moderne.

Tous ces risques de contamination n'ont pas la même importance selon l'ADN ciblé, et il n'est pas possible de tous les contrôler. Les manipulations passées lors de l'enfouissement des restes ne sont ainsi pas évitables. Tout au plus est-il possible de les connaître grâce à l'étude fine du contexte d'enfouissement. La migration de l'ADN dans le sol est également peu contrôlable, et par ailleurs peu étudiée.

Il a en revanche très tôt été mis en évidence que la pollution par de l'ADN humain moderne était un problème très important de la recherche d'ADN humain ancien, voire que toute recherche de ce type était vaine faute de pouvoir prouver de manière absolument certaine l'authenticité de séquences humaines anciennes. En effet, la manipulation à mains nues de spécimens anciens est largement suffisante pour y laisser durablement l'empreinte ADN de ceux qui les auront manipulés. Les gouttelettes de salive, de sueur, ou les cellules de peau projetées sur les spécimens, peuvent également contaminer la surface d'un échantillon.

L'ADN humain peut évidemment contaminer des spécimens non humains desquels il s'agirait d'extraire l'ADN endogène. Ce type de contamination a été mis en évidence dans les années 90 lors des premières études de spécimens animaux muséaux et paléontologiques qui livraient alors des séquences humaines. Dans de telles circonstances, la difficulté est représentée par le fait de rechercher les séquences d'animaux éteints pour lesquels aucune donnée génétique n'est disponible ce qui nécessite donc le *design* de *primers* très peu spécifiques, susceptibles par exemple de cibler tous les mammifères, y compris les humains. Dans la plupart des cas cependant, les parasites que nous recherchons sont actuellement connus, et les informations génétiques existent pour le *design* de *primers* spécifiques qui ne risqueront pas d'amplifier de l'ADN humain contaminant. De fait, ces risques ne sont néanmoins pas aussi prédominants dans la recherche d'ADN de parasites, bien qu'une attention particulière doive être portée aux échantillons en provenance de zones actuellement endémiques pour les parasitoses recherchées.

Le risque de contamination le plus important dans le cas de parasites anciens vient des amplicons précédemment réalisés dans le même laboratoire. En effet, une seule molécule cible initiale livre *in fine* des millions de copies dans le produit de PCR. Une molécule ancienne extrêmement rare devient donc disponible en extrême grande quantité. Ces molécules peuvent par la suite être projetées à la faveur des microgouttelettes dégagées par l'ouverture des tubes PCR, par exemple au moment de la préparation de la migration des échantillons sur gel. Ces gouttelettes peuvent se déposer sur les surfaces de travail, sur les tubes adjacents, sur le personnel, ou rester en suspension dans l'air, et être transportées jusqu'à un nouveau produit d'extraction non encore amplifié. Ces amplicons contaminants

très nombreux pourront là sans aucune difficulté prendre la place des cibles recherchées dans cette nouvelle PCR.

Prévention des contaminations par amplicons

En effet, si un volume de 10 µl de produit PCR contient 10^{11} amplicons de la séquence recherchée, alors une gouttelette aérosol de 1 nl de ce même produit contient potentiellement 10 millions de copies de la séquence amplifiée. Cette quantité est à mettre en regard des 1000 copies que peut contenir au mieux un spécimen ancien (typiquement un fragment d'os). Cette gouttelette transportée jusqu'à un nouveau produit d'extraction le contaminera inévitablement, et cette contamination sera extrêmement difficile à remarquer, d'autant plus si les *primers* fabriqués pour sa recherche n'incluent pas une certaine variabilité spécifique qui pourrait permettre de mettre en évidence l'amplification inhabituelle et inattendue d'un variant rare. Dans tous les cas difficiles à détecter, il est dès lors nécessaire de mettre en place des mesures destinées à prévenir ce type de contaminations (Brown et Brown, 2011).

La première et plus évidente des précautions à prendre concerne l'utilisation de matériel à usage unique et le nettoyage adéquat des surfaces de travail entre la manipulation de chaque nouveau produit de PCR. Ces conditions devraient impliquer l'usage de gants stériles neufs, la manipulation sous hotte, le nettoyage de la surface de travail à l'eau de javel, et son irradiation sous UV.

Il a également rapidement été préconisé de travailler dans un laboratoire adapté aux contraintes techniques de l'ADN ancien, impliquant la séparation physique des lieux d'extraction, de préparation enzymatique et de PCR. Dès lors, les échantillons étudiés doivent constamment suivre le flot des étapes d'analyse en étant transportés de lieu en lieu sans jamais revenir en arrière. Ultimement, les produits de PCR et les millions d'amplicons qu'ils contiennent ne doivent donc jamais pouvoir être réintroduits dans les salles de préparation et d'extraction des échantillons qui se trouvent en amont du processus d'analyse.

Il a aussi été proposé de préparer systématiquement le mix PCR en remplaçant le dTTP par le dUTP (2'-deoxyuridine 5'-triphosphate). En effet, les bases dUTP s'apparieront toujours correctement à la place des dTTP lors des cycles de PCR et n'entraveront pas la recherche des séquences cibles. Mais il sera en revanche possible par la suite de traiter préventivement tous les nouveaux produits d'extractions avec l'enzyme uracil-N-glycosylase, capable de cliver les polynucléotides à leurs bases U. Ainsi, tous les amplicons éventuellement introduits par contamination dans un nouveau produit d'extraction seront clivés par l'enzyme avant de faire l'objet d'une nouvelle PCR. L'enzyme sensible à la chaleur, contrairement à la *Taq* polymérase, sera définitivement inactivée au premier cycle de PCR et ne pourra donc pas cliver les nouveaux amplicons produits à cette occasion.

L'extraction d'ADN

Principes généraux de l'extraction d'ADN

Après la collecte des échantillons sur le terrain ou dans les réserves muséales, l'extraction de l'ADN est la première étape, cruciale, d'une longue suite d'expériences. La bonne conduite de cette étape garantit l'obtention d'ADN dont la qualité de la purification déterminera la

possibilité ou non d'utiliser ces produits d'extraction dans la suite du processus. La qualité de la purification fera l'objet de plusieurs contrôles afin d'évaluer la quantité d'ADN extrait et la présence ou non d'inhibiteurs de PCR dans les échantillons.

Chez les organismes eucaryotes tels ceux étudiés ici, 90% de l'ADN est contenu dans leur noyau cellulaire, le reste du génome étant contenu dans les organelles comme les mitochondries chez les animaux. Comme dans le cas d'extractions d'ADN classiques sur des échantillons tissulaires frais, l'enjeu de cette manipulation consiste à isoler les molécules d'ADN de tout le reste des constituants cellulaires. Ce processus est facilité par le poids moléculaire très important de l'ADN, par opposition aux autres molécules l'entourant dans la cellule, à savoir principalement des protéines et ARN.

La méthode d'extraction employée doit donc idéalement permettre d'obtenir un fort rendement d'ADN avec peu ou pas d'inhibiteurs contaminants ; elle ne doit pas être sélective et doit permettre l'extraction de tout l'ADN qu'il soit nucléaire ou mitochondrial ; elle ne doit pas occasionner de dommages aux molécules d'ADN, qu'ils soient mécaniques ou chimiques ; l'ADN obtenu doit être de fort poids moléculaire ; elle doit être optimisée pour être facile de mise en œuvre et autoriser le traitement d'une grande quantité d'échantillons.

L'extraction, quelle que soit la méthode employée, repose donc sur une succession de traitements qui consistent d'abord en une lyse cellulaire afin de libérer les molécules d'ADN des membranes les contenant (membranes cellulaire, nucléaire et mitochondriale), puis à retirer les ARN et protéines cellulaires, à concentrer l'ADN obtenu, et à évaluer la quantité et la pureté de cet ADN. Durant tout ce processus, il est important d'éviter autant que possible toute dégradation superflue des molécules d'ADN, d'autant plus d'ADN ancien déjà fortement dégradé, d'abord et avant tout en employant du matériel et des réactifs *DNases-free*. Il a de surcroît été recommandé que le pipetage de solutions contenant de l'ADN soit aussi doux que possible. La pointe de la pipette doit toujours être immergée au moment de l'expulsion de la solution, et tout vortex ou secouement d'une solution d'ADN ancien est à proscrire autant que faire se peut.

La mise en solution

L'échantillon à extraire est d'abord mis en solution tampon. Effectivement, la suite du processus induira l'utilisation de différents réactifs et la libération de nombreux composants cellulaires dans la solution. L'utilisation d'une solution tampon vise à éviter toute variation de pH qui pourrait nuire à la qualité de l'ADN extrait. En cas de variations de pH, une solution trop acide (en dessous de pH 5) serait propice à la dépurination de l'ADN, tandis qu'une solution trop alcaline (au-dessus de pH 12) provoquerait l'ouverture du double-brin. Comme tout tampon, l'enjeu est donc de maintenir la solution dans un intervalle neutre durant toute la manipulation, aux alentours de 7,6-9,0. En raison de son faible coût et de son fort pouvoir tampon, le tris(hydroxyméthyl)aminométhane ou Tris, est très couramment utilisé à cet effet. La concentration de Tris peut varier en fonction du type de cellule étudiée (animale, végétale, bactérienne, ...).

Dans le même temps, la force ionique de la solution qui servira à la lyse cellulaire est classiquement maintenue stable par l'addition de chlorure de sodium (NaCl) afin de préserver la structure des molécules d'ADN. La concentration en NaCl peut également être ajustée en fonction du protocole d'extraction suivi, notamment dans le cas d'une déprotéination au phénol afin de faciliter la séparation des phases.

La lyse cellulaire

La lyse cellulaire est permise par l'ajout à la solution tampon de détergents propices à la rupture des membranes cellulaires lipidiques et ainsi à la libération de l'ADN qu'elles contiennent. Les détergents peuvent également participer à la dénaturation protéique et faire office d'inhibiteurs de DNases à ce stade, ou en compléter d'autres comme l'acide éthylène tétra-acétique (EDTA).

Le dodécylsulfate de sodium, ou SDS, est le détergent le plus couramment utilisé du fait de son faible coût.

Un inhibiteur de DNases comme l'EDTA permet, par sa forte activité de chélation des ions Mg^{2+} , de séquestrer ceux-ci et de les rendre indisponibles aux DNases dont ils sont des cofacteurs essentiels d'activité. Cette séquestration des ions magnésium permet de surcroît d'éviter l'agrégation des acides nucléiques en solution ou l'agrégation de protéines autour de ceux-ci.

Des réactifs comme la SDS et l'EDTA tendent à précipiter avec l'ADN lors de la phase de concentration par centrifugation à l'éthanol. Pour cette raison, il est important de suffisamment sécher les pelotes d'ADN obtenues à la toute fin du processus d'extraction, faute de quoi ces réactifs destinés à rendre disponible l'ADN et contrer les inhibiteurs de PCR, agiront eux-mêmes comme inhibiteurs de la PCR.

La déprotéination

La lyse cellulaire est suivie de la déprotéination qui vise à purifier le lysat obtenu précédemment. La déprotéination exploite les différences chimiques entre acides nucléiques et protéines, comme la solubilité ou la sensibilité aux activités de digestion enzymatiques. La solubilité différentielle peut être exploitée notamment par l'utilisation de solvants organiques, la formation de complexes moléculaires, ou des différences d'absorption à travers une même matrice.

La digestion enzymatique permet de dégrader jusqu'à 80-90% des protéines présentes dans l'échantillon après la lyse cellulaire. En effet, les acides nucléiques et les protéines sont respectivement reconnus par des enzymes digestives très spécifiques. Les protéines contenues dans l'échantillon peuvent donc être digérées par l'emploi de protéases généralistes dégradant toutes les protéines présentes. Les plus utilisées pour l'extraction d'ADN sont la Protéinase K et la Pronase. La Protéinase K n'est pas autodigestive, et il n'est donc pas besoin de réalimenter la préparation en protéases au cours du processus, ce qui la rend d'autant plus pratique et explique sa popularité, en plus de son faible coût. Ces protéases sont actives en situation de faible concentration de détergent anionique, de forte concentration de sels et d'EDTA, et tolèrent une large variation de pH et de température et sans nécessiter de cofacteurs. L'efficacité du processus de digestion est cependant substrat-dépendant : cette activité décroît à mesure que la concentration de substrat diminue dans l'échantillon. Une digestion complète de toutes les protéines présentes dans l'échantillon nécessiterait donc un temps infini pour être opérée, et c'est la raison pour laquelle le processus est arrêté lorsque la quantité de substrat est trop faible pour que les protéases restent efficaces dans le temps imparti pour une extraction d'ADN. Le même phénomène implique de procéder à la digestion enzymatique immédiatement après la lyse cellulaire et avant les étapes subséquentes de

purification, c'est-à-dire au moment où la concentration de protéines dans l'échantillon est la plus forte afin de maximiser l'activité des protéases.

Traditionnellement, la méthode de Kirby (1957) et la méthode de Marmur (1961), exploitant respectivement le phénol et le chloroforme, sont utilisées afin de séquestrer l'ADN hydrophile en phase aqueuse et les protéines hydrophobes solubles dans les solvants organiques.

La séquestration de l'ADN par la silice a été introduite plus récemment (Vogelstein et Gillespie, 1979), et la méthode a été améliorée notamment par la fabrication de matrices de silice en colonne très faciles et rapides de mise en œuvre. La solution d'extraction peut être filtrée à travers cette matrice de différentes façons, notamment par gravité ou par centrifugation. Ce processus exploite la capacité pour l'ADN de se lier à la silice en situation de forte concentration de sels alors que les protéines à prédominance hydrophobe passeront à travers la matrice s'en s'y lier au cours des lavages successifs. La solution de lavage inclut environ 50 % d'éthanol et 0,1 M de chlorure de sodium, attendu que ceux-ci inhibent la précipitation de la plupart des protéines. La force ionique élevée et un pH égal ou inférieur à 7 ayant permis à l'ADN de se lier à la matrice de silice, doivent après lavage, être renversés, afin de permettre la mise en solution de cet ADN. Ce renversement se fait par l'emploi d'une solution d'éluion à faible force ionique et pH neutre, comme un tampon Tris ou de l'eau distillée. L'amélioration des matrices initiales de silice vers des membranes centrifugeables a permis de sensiblement augmenter le rendement de cette méthode de purification, passant de 50-75% de rendement d'ADN, à 70-80%. Cette méthode d'extraction très pratique est devenue très populaire dans le champ de l'ADNa, notamment par l'emploi de kits commerciaux basés sur ce principe, comme le kit *DNeasy PowerMax Soil* (QIAGEN) utilisé au cours de ce travail.

La concentration

La concentration de l'ADN extrait est la dernière étape de purification du processus d'extraction, rendant ensuite le produit d'extraction disponible pour la quantification et le contrôle de la pureté de la solution obtenue. Cette étape permet de concentrer les acides nucléiques de fort poids moléculaire afin de les séparer de la solution de déprotéination environnante et de retirer les impuretés restantes de faibles poids moléculaire.

La concentration de l'ADN peut notamment être obtenue par la méthode de précipitation à l'éthanol ou à l'isopropanol. Dans la solution d'éluion préalablement obtenue, les molécules d'ADN sont entourées de molécules d'eau interagissant fortement entre elles et favorisant ainsi la dilution de l'ADN. L'ajout d'alcools hautement miscibles dans l'eau mais interagissant très faiblement avec l'ADN permet de diminuer la solubilité de l'ADN et de le précipiter par centrifugation. Afin d'éviter l'ajout de très grandes quantités d'éthanol 100% (dans le cas de l'emploi d'éthanol), la préparation d'éthanol à 70% peut être complétée par l'ajout de petites quantités de sels diminuant l'activité des molécules d'eau, comme l'acétate de sodium.

Après 24 h de réfrigération à -20°C afin de faciliter la concentration, et la centrifugation de la solution réfrigérée, la solution de précipitation peut être retirée et les pelotes d'ADN obtenues séchées complètement afin d'éviter toute inhibition par les reliquats de la solution d'éthanol. Après séchage, l'ADN lavé dans une solution d'éluion libre de tout inhibiteur peut faire l'objet de quantification et de contrôle de pureté par spectrophotométrie.

Quantification et pureté de l'ADN extrait

L'ADN extrait et concentré peut être directement utilisé dans la suite du processus. Il est cependant utile de contrôler à ce stade la quantité et la qualité de l'ADN extrait. L'exposition aux ultraviolets en spectrophotométrie est couramment utilisée à cet effet.

Amplification d'ADN par PCR

Principes de la PCR (Polymerase Chain Reaction)

La PCR met en jeu les mécanismes intracellulaires de synthèse d'ADN. *In vivo*, ils permettent la réparation constante de l'ADN exposé à divers facteurs de dégradation comme l'exposition aux ultraviolets. Ces mécanismes se retrouvent simplifiés *in vitro* où une enzyme polymérase est employée dans une série de cycles de réactions provoquées par la chauffe et le refroidissement successifs des produits d'extraction à l'aide d'un thermocycleur. L'ADN nouvellement synthétisé à chaque cycle peut permettre de copier une unique molécule d'ADN présente dans le produit d'extraction initial en millions d'exemplaires, le rendant ainsi manipulable dans la suite du processus (**Figure 11**). Ce processus de copie étant exponentiel, on parle également d'amplification de l'ADN extrait.

d'ADN. Lors de la PCR, la synthèse doit être provoquée par des amorces (ou *primers*) spécialement conçues à cet effet. Ces *primers* consistent en de courts oligonucléotides (une séquence d'environ 20 nucléotides), complémentaires d'une région de la séquence d'ADN recherchée dans les échantillons. Lors de la phase d'hybridation, ils serviront à hameçonner l'ADN recherché, noyé au milieu d'autres séquences ADN dans le cas d'échantillons environnementaux.

L'enzyme polymérase pourra par la suite entrer en activité lors de la phase d'extension, en ajoutant des nucléotides libres présents dans la solution de PCR à l'extrémité 3'-OH des *primers* ainsi fixés aux simples-brins dénaturés et rendus disponibles par la première phase de dénaturation. Grâce à la règle de complémentarité des bases, la polymérase reconstruira ainsi une séquence d'ADN double-brin identique à la molécule d'origine qui a été dénaturée pour permettre cette synthèse.

Avec un rendement d'amplification optimal, 20 cycles de réaction permettent d'obtenir plus de 1 million de copies d'une seule molécule initialement présente dans l'échantillon. Les cycles ne fonctionnent pas dans 100% des cas, et les programmes classiques de PCR impliquent 25 à 40 cycles afin de disposer d'une marge correcte. Dans le cas d'un programme à 40 cycles, il est théoriquement possible d'obtenir plus de 1 trillion de copies d'une molécule d'ADN initialement extraite et présente dans l'échantillon. Dès lors que les conditions de réaction sont maintenues, celle-ci peut théoriquement durer jusqu'à l'épuisement des ressources nécessaires : l'arrivée au bout d'une séquence ADN à reconstruire, ou l'épuisement des réserves de nucléotides libres dans la solution.

Les phases d'un programme de PCR : Dénaturation, hybridation et extension

La PCR repose, outre ses composants de base (ADN-cible extrait, polymérase, *primers* et nucléotides libres), sur la programmation d'un cycle de températures provoquant les différentes réactions souhaitées. Ce cycle se décompose en trois étapes : la dénaturation, l'hybridation, et l'extension.

La première étape est celle de la dénaturation : la température du thermocycleur où sont placés les échantillons est classiquement réglée à 94-95°C. Une telle température permet de dénaturer les molécules d'ADN par la rupture des liaisons hydrogènes en leur centre entre les bases complémentaires. Cette dénaturation consiste en une ouverture des séquences initialement double-brins, et leur dissociation en deux séquences simple-brins, séparées mais complémentaires. Il est possible de se représenter cela par l'ouverture d'une fermeture-éclair sans butée terminale : on obtient deux brins séparés et complémentaires de la fermeture-éclair initialement fermée.

La deuxième étape du cycle est celle de l'hybridation : la température est abaissée aux environs de 55°C, ce qui va permettre aux *primers* flottant dans la solution de s'apparier avec les séquences d'ADN qui leur sont complémentaires et qui ont été exposées grâce à la phase de dénaturation précédente. Cette température doit être adaptée aux *primers* utilisés afin d'optimiser la spécificité de la réaction. De manière générale, une température plus haute permet une meilleure spécificité en limitant les appariements entre des *primers* et des brins d'ADN non complémentaires (dits *mismatches*). Les amorces s'étant hybridées à leur séquence complémentaire vont alors faire office d'initiateurs de la réaction d'extension à venir. Les *primers* fonctionnent par couple, chaque membre du couple étant conçu pour s'apparier avec l'un des deux brins de la séquence ADN recherchée. L'espace situé entre ces

deux *primers* dans le génome des organismes étudiés, est destiné à être synthétisé et copié en millions d'exemplaires.

La troisième étape est celle de l'extension, durant laquelle la température du thermocycleur avoisine 72°C. Le bon fonctionnement de l'activité enzymatique à une telle température est garanti par l'utilisation de polymérases thermostables comme la polymérase *Taq* initialement extraite de bactéries extrêmophiles thermophiles (*Thermophilus aquaticus*). Cette stabilité garantit également la non-dégradation des polymérases au travers des différentes phases de dénaturation du cycle de PCR. Leur utilisation permet en outre de limiter les extensions non désirées qui pourraient se produire avec des polymérases fonctionnant à température ambiante. Durant cette phase, les polymérases en contact avec les *primers* hybridés à leurs séquences simple-brins complémentaires vont ajouter à ces derniers les bases correspondantes aux nucléotides exposés. Ces bases sont rendues disponibles par l'emploi dans la solution de PCR d'un très grand nombre de nucléotides libres. La polymérase étend donc la séquence complémentaire depuis le primer et reconstruit une séquence double-brin (on synthétise artificiellement un brin d'ADN complémentaire au brin exposé).

Résumé d'un cycle de PCR

- La solution d'extraction préalablement obtenue est pipetée dans un microtube au mix PCR contenant des polymérases, une grande quantité de nucléotides libres (chacun des quatre deoxynucléotides à savoir dATP, dGTP, dCTP et dTTP), et des couples d'amorces conçues pour s'hybrider à une région particulière du génome de l'organisme recherché. Ces tubes sont placés au thermocycleur programmé selon les spécificités des amorces utilisées.
- Une phase de dénaturation à 94°C dénature les molécules d'ADN présentes dans la solution, provoquant ainsi leur ouverture et leur séparation en deux molécules simple-brin.
- Une phase d'hybridation à ~55°C lie les amorces aux séquences complémentaires dénaturées.
- Une phase d'extension à 72°C permet aux polymérases de synthétiser de nouveaux brins complémentaires depuis les amorces fixées aux séquences dénaturées.

Ce cycle en trois étapes est programmé 20 à 40 fois et permet théoriquement l'obtention de 1 048 572 (2^{20}) à 1 099 511 600 00 (2^{40}) copies d'une molécule initiale d'ADN (Brown et Brown, 2011).

À l'issue de la complétion de tous les cycles programmés, le thermocycleur conserve les échantillons à basse température (entre 4 et 10°C), jusqu'à leur retrait du dispositif. Les échantillons peuvent alors être conservés à -20°C ou immédiatement utilisés dans la suite du processus.

Analyse des produits PCR

L'amplification d'ADN ancien n'étant pas garantie par une réaction PCR (en raison de la faible quantité et de la forte dégradation des molécules recherchées), il est nécessaire de contrôler le produit d'amplification obtenu. Ce monitoring post-PCR permettra d'adapter la

suite du processus en fonction des résultats obtenus, notamment en ajustant la quantité de produit PCR nécessaire au séquençage le cas échéant.

Le moyen le plus simple de contrôler le rendement d'une réaction PCR est de faire migrer un aliquot des fragments obtenus par électrophorèse.

L'électrophorèse sur gel d'agarose

Principes généraux de l'électrophorèse

L'électrophorèse permet de séparer des fragments d'ADN de différentes longueurs à travers un gel coulé dans une cuve adaptée après surfusion de ses composants, puis prise et rigidification de ce gel. Un aliquot du produit PCR à contrôler est mélangé à un réactif se liant aux molécules d'ADN si présentes en solution, et luminescent sous UV le cas échéant. La solution d'électrophorèse ainsi obtenue est placée dans un puits creusé à une extrémité de ce gel avant que celui-ci ne fige complètement. Le gel, placé horizontalement dans un bain de solution tampon, est exposé à un courant électrique traversant le dispositif de part en part. Les acides nucléiques étant chargés négativement, ils migrent ainsi horizontalement depuis le pôle négatif (la cathode), du côté duquel les puits du gel ont été placés, vers le pôle positif (l'anode) de ce dispositif.

Lors de la migration, le gel agit exactement comme un tamis à travers lequel on voudrait faire passer du sédiment archéologique : les molécules de grande taille restent en amont du gel vers le pôle négatif, alors que les molécules de plus petite taille (comme les courts fragments d'ADN) passent plus facilement à travers les « mailles » et migrent vers le pôle positif. Elles se trouvent ainsi séparées les unes des autres. L'un des puits préalablement faits dans le gel a été rempli d'un marqueur d'échelle qui, lui, agira exactement comme une échelle photographique sur une fouille archéologique : au moment de l'exposition du gel aux UV, le marqueur indiquera la taille des fragments d'ADN ayant migré parallèlement depuis les autres puits du même gel. Un signal luminescent fort issu de l'un de ces autres puits à une longueur attendue (conformément au marqueur d'échelle à laquelle il sera comparé), rendra compte d'un succès d'amplification pour l'échantillon duquel aura été tiré cet aliquot. Il conviendra alors de le préparer pour le séquençage ou toute autre étape subséquente du *design* expérimental, comme le clonage bactérien.

Les composants d'une migration sur gel : agarose, solution tampon, intercalant et cuve d'électrophorèse

Les produits PCR ou les produits de digestion enzymatique peuvent être visualisés sur un gel d'électrophorèse. Ces gels autrefois constitués de polyacrylamide sont dorénavant coulés à base d'agarose qui est la forme ultra purifiée d'un gélifiant naturel, l'agar. L'agarose, conditionnée sous forme de poudre, est mis en surfusion dans une solution tampon (TBE ou TAE). La surfusion permettant l'obtention d'une solution visqueuse homogène est alors coulée dans un rail où le gel pourra figer en redescendant à moins de 40°C. La matrice des molécules entrecroisées d'agarose permet de trier des molécules d'ADN allant de 50 000 à 100 pb. La concentration en agarose du gel préparé permet d'ajuster la résolution souhaitée, un gel de faible concentration (par exemple 0,2%) laissant migrer des molécules de fort poids moléculaire, et un gel de forte concentration (par exemple 2%), ne laissant migrer que des molécules de faible poids moléculaire. Pour la visualisation de très courts fragments dans les recherches d'ADN ancien, il est possible de préparer des gels à 3 voire 4% d'agarose. Cette concentration permet de distinguer des fragments de l'ordre de 50 à 100 pb, à 5 pb près.

Après la mise en surfusion mais avant le refroidissement et la prise du gel d'agarose y est ajouté un intercalant, typiquement du bromure d'éthidium (BET), cependant de plus en plus remplacé par d'autres produits tel le *SYBRGold*. L'intercalant est une molécule dont la conformation lui permet de se lier à l'ADN en se glissant entre les paires de bases de ce dernier (elle s'intercale entre les paires de base). Par ailleurs, l'intercalant est également luminescent, et son exposition à un rayonnement ultra-violet permettra de visualiser ses zones de fortes concentration dans le gel d'agarose auquel il aura été ajouté, et *a fortiori* les zones de forte accumulation de molécules d'ADN auxquelles il se sera lié.

Les solutions d'ADN à analyser sont chargées sur le gel d'agarose plongé dans une cuve d'électrophorèse remplie de solution tampon. Reliée à un générateur, la cuve d'électrophorèse fait circuler un courant électrique à l'intérieur du bain de solution tampon qui assure une bonne conductivité. Les molécules d'ADN, qui de par leur propriété d'acide organique sont chargées négativement, sont alors portées par ce courant à l'intérieur du gel d'agarose, depuis la cathode vers l'anode. Le maillage moléculaire du gel ajusté par sa concentration d'agarose assure alors le tamisage des molécules d'ADN, les plus courtes migrant le plus loin.

Après la fin du processus de migration, les résultats peuvent être visualisés en exposant le gel aux UV. Un intercalant comme le BET lié aux molécules d'ADN absorbe le rayonnement UV à 300 nm et réémet dans les bandes visibles de l'orange à 590 nm. Si des molécules d'ADN de la longueur attendue étaient bien présentes dans l'échantillon, elles sont alors révélées par la luminescence de l'intercalant s'étant accumulé dans ces molécules et formant des bandes visibles sur le gel exposé. Cette méthode permet de détecter de très faibles quantités de molécules de l'ordre de 5 ng. Les bandes visibles ne révèlent donc pas la présence d'une molécule d'ADN amplifiée ou digérée, mais d'une très grande quantité.

Clonage d'ADN

Principes du clonage sur plasmides bactériens

Le clonage bactérien vise à obtenir une amplification supplémentaire des fragments d'ADN que l'on souhaite étudier. Cette méthode consiste à introduire un fragment d'ADN dans une bactérie par la suite mise en culture. Les colonies de bactéries ainsi obtenues à partir d'une cellule d'origine contenant le fragment introduit, assurent l'obtention d'un grand nombre de copies de ce fragment grâce à la division cellulaire et au temps de génération rapide des bactéries utilisées.

Si le séquençage direct d'un produit d'amplification d'ADN peut s'avérer efficace dans certaines situations, il peut être préférable d'insérer une étape de clonage bactérien préalable à ce séquençage. Initialement, le clonage systématique des amplicons obtenus à partir de molécules anciennes d'ADN vise à faciliter la détection de molécules modernes contaminantes dans les produits PCR clonés. En effet, les produits PCR peuvent contenir les amplicons de molécules anciennes ciblées, mais également des molécules modernes correspondant à l'espèce recherchée. Lors du séquençage, cette superposition de séquences anciennes et modernes peut aboutir à des indéterminations de bases nucléotidiques, sans qu'il soit possible de déterminer visuellement quelle base correspond à la séquence ancienne, et quelle base correspond à la séquence moderne. En introduisant les amplicons individuels obtenus dans des vecteurs bactériens dont les clones seront des copies d'un seul amplicon et en séquençant séparément les fragments ensuite extraits de ces clones, il est possible de

distinguer des séquences individuelles qui se seraient autrement superposées en séquençage direct, et d'aider à la distinction des séquences anciennes et modernes le cas échéant. Cet usage du clonage bactérien est tout particulièrement indiqué lors de l'étude de séquences humaines, d'animaux domestiques ou de plantes cultivées dont les fragments modernes pourraient très facilement avoir contaminé les produits d'amplifications de molécules anciennes.

La détection de contaminations modernes n'est pas un enjeu aussi important dans l'étude de séquences d'helminthes gastrointestinaux anciens que de séquences humaines anciennes. En effet, alors que le risque de contamination de séquences humaines peut aisément venir de l'opérateur lui-même, la prévalence des helminthes recherchés est la plupart du temps nulle ou quasi nulle dans le pays où se déroule l'analyse et dans un laboratoire où, de surcroît, ces parasites ne font pas l'objet d'études biomoléculaires modernes. Le clonage bactérien n'en reste pas moins essentiel et ceci à deux fins : 1/ fiabiliser le séquençage à venir et 2/ détecter des séquences minoritaires non contaminantes éventuellement contenues dans le produit PCR.

Fiabilisation du séquençage

La réaction de séquençage est effectivement tributaire de la qualité des produits PCR utilisés. Si la concentration des amplicons est trop faible dans la solution à séquencer, ou si les fragments se trouvent trop partiellement amplifiés, cette réaction peut ne pas démarrer, et les séquences peuvent ne pas être obtenues, en dépit de produits PCR positifs après électrophorèse sur gel et dument dosés. De surcroît, une réaction comme celle du séquençage Sanger tend à oblitérer les premières bases d'une séquence lue. En cas de séquençage de fragments déjà très courts, de l'ordre de 50 à 100 pb comme c'est souvent le cas s'agissant d'ADN ancien, et possiblement incomplètement amplifiés, cette oblitération peut faire disparaître une grande partie de la longueur des amplicons préalablement obtenus, voire même la totalité de leur longueur. Si, par chance, seule une portion de l'amplicon est oblitérée par le démarrage de la réaction de séquençage, il est fort probable que la portion restante ne sera pas suffisamment longue pour faire l'objet d'une requête dans les bases de données génétiques afin d'identifier l'organisme auquel appartient la séquence obtenue. Ces phénomènes peuvent rendre extrêmement précaire la systématisation d'un séquençage direct en faisant échouer un grand nombre de réactions de séquençage dont les produits PCR étaient indubitablement positifs après électrophorèse et donc en multipliant les erreurs de type II. La multiplication des réactions de séquençage afin de limiter ces faux négatifs peut par ailleurs engendrer un surcoût évitable qui serait avantageusement remplacé par le clonage préalable des échantillons à séquencer. En insérant les fragments amplifiés dans des vecteurs bactériens, les inserts qui seront les séquences d'intérêt, se trouveront lors de la réaction de séquençage cernés à leurs deux extrémités par les séquences résiduelles du vecteur dans lequel ils auront été insérés. L'oblitération provoquée par le démarrage de la réaction de séquençage portera ainsi sur le fragment de vecteur, et non pas sur la séquence d'intérêt. Par ailleurs, le clonage pourra avoir augmenté la quantité de molécules originellement amplifiées mais très faiblement visibles sur gel d'électrophorèse, favorisant ainsi la réaction de séquençage.

Détection de séquences minoritaires

Enfin, le clonage de produits PCR ciblant des fragments anciens d'helminthes peut aussi permettre la mise en évidence de la présence de molécules minoritaires dans le produit d'amplification. Les principes d'une telle détection sont les mêmes que lors de la détection de contaminations modernes. Mais dans le cas où un couple d'amorces permettant de distinguer deux espèces proches serait utilisé dans une réaction PCR, on peut s'attendre à ce que ces deux espèces soient initialement présentes dans l'échantillon amplifié, mais que les fragments de l'une d'elles soient devenus majoritaires dans la solution PCR lors des premiers cycles d'amplification. Le séquençage direct du produit obtenu ne rendra compte que de la séquence majoritairement contenue dans l'échantillon dans le cas d'un séquençage Sanger. *A contrario*, l'insertion de différents amplicons dans des clones bactériens et leur séquençage individuel pourra permettre de détecter la présence d'un amplicon minoritaire, et donc d'un deuxième taxon effectivement présent dans l'échantillon, sans être une contamination moderne.

Insertion d'ADN dans un vecteur bactérien

Le clonage bactérien repose en premier lieu sur l'insertion d'un fragment amplifié d'ADN cible dans un vecteur. Dans le domaine des maladies infectieuses, un vecteur désigne un organisme, souvent un animal comme un arthropode, assurant la transmission d'un pathogène depuis un organisme hôte à un autre. Cet usage pourra être rencontré dans la suite de ce manuscrit. Mais en biologie moléculaire, un vecteur désigne une séquence ADN capable d'introduire dans le génome d'un organisme une séquence qui lui est étrangère. C'est à cet usage là qu'il est présentement fait référence.

Différents vecteurs peuvent être utilisés pour le clonage, dont les plasmides bactériens à transformer dans des cellules d'*Escherichia coli*. Le plasmide, qui est une molécule d'ADN bactérien circulaire à la réplication indépendante du reste du génome, est alors linéarisé à l'aide d'une enzyme de restriction. Cette ouverture permet, en ajoutant à la solution de vecteurs linéaires les fragments d'ADN à insérer, ainsi qu'une enzyme de ligation (ou ligase), de former un vecteur dit recombinant, qui sera formé de la séquence d'origine du plasmide plus une séquence étrangère. L'activité de la ligase assure la connexion du fragment étranger au vecteur linéarisé, et la fermeture du vecteur muni de son nouvel insert. Le vecteur a alors été recombiné.

L'insert est classiquement placé entre les deux portions d'un gène létal pour la bactérie. Ainsi, tout plasmide qui aurait été refermé par la ligase sans avoir préalablement reçu d'insert verrait la reconnexion des deux portions de ce gène. Devenu fonctionnel, ce gène assurerait la mort de la bactérie dans laquelle il serait introduit, et qui ne pourrait pas alors former de colonie pendant la culture bactérienne. *A contrario*, l'insertion d'un fragment amplifié dans le plasmide désactivera ce gène et assurera que la bactérie puisse former une colonie, et multiplier les copies de son insert.

L'incorporation de plasmides portant un gène létal ne garantira cependant pas que des bactéries tierces se développent sur le milieu de culture utilisé par la suite. Afin d'éviter une telle pollution, les plasmides utilisés comportent également un marqueur de sélection biologique comme un gène de résistance antibiotique exprimé par la cellule transformée. Ainsi, un vecteur comportant par exemple une résistance à l'ampicilline pourra être utilisé

conjointement avec un milieu de culture comportant cet antibiotique. Seules les bactéries comportant un plasmide avec un insert pourront se développer sur le milieu de culture.

Transformation de cellules compétentes (E. coli)

Les plasmides ne peuvent pas se répliquer en dehors d'une bactérie. Ils doivent donc être introduits dans une cellule bactérienne qui permettra la multiplication des inserts par la réplication des plasmides et la division cellulaire. Pour ce faire, les vecteurs recombinants préalablement obtenus sont mis en solution avec des cellules d'*Escherichia coli* compétentes. Les cellules dites compétentes ont obtenu la capacité à intégrer de l'ADN contenu dans leur environnement. En solution, les cellules compétentes d'*E. coli* vont donc intégrer à leur cytoplasme les vecteurs recombinants.

Plusieurs techniques existent pour faciliter cette transformation, incluant le choc thermique et l'électroporation. En effet, les plasmides doivent passivement entrer dans les cellules bactériennes par les pores de leur membrane lipidique. Cette intégration est grandement facilitée par un choc thermique de quelques secondes consistant à plonger les solutions à transformer depuis le bac de glace à 4°C dans lequel elles sont conservées dans un bain à 42°C. La taille des plasmides à faire rentrer dans les cellules peut sensiblement compliquer cette opération. La méthode de l'électroporation usant d'un choc électrique pour faire rentrer les plasmides de grande taille peut dans ce cas être utilisée. Néanmoins, les amplicons d'ADN anciens insérés dans les vecteurs étant classiquement de très courte taille (de l'ordre de quelques dizaines de paires de bases), les plasmides recombinés produits restent de petite taille, et la méthode du choc thermique suffisamment efficace pour produire une quantité utile de cellules transformées.

Une fois intégrés dans les cellules nouvellement transformées, les plasmides pourront se répliquer grâce à la machinerie cellulaire des bactéries : les enzymes polymérases contenues dans leur cytoplasme pourront produire plusieurs dizaines à centaines de copies du plasmide nouvellement intégré grâce au point d'origine de réplication automatiquement reconnu par les polymérases. Ce seront autant de copies du fragment d'ADN inséré qui seront produites avant toute fission cellulaire.

Les plasmides restés linéaires ou ceux n'ayant pas intégré d'inserts ne seront jamais répliqués : les premiers ne rentrent généralement pas dans les cellules lors de la transformation, et les seconds provoqueront la mort des cellules transformées. *A contrario*, les plasmides munis d'un insert ayant désactivé le gène létal pourront se répliquer à l'intérieur de la cellule, le nombre de réplifications étant dépendant du type de vecteur utilisé.

Culture bactérienne

La mise en culture des cellules bactériennes transformées met à profit le temps de génération rapide des bactéries *E. coli*. Dans des conditions de culture optimales, ces cellules qui colonisent habituellement l'intestin humain se divisent toutes les 22 minutes, soient 30 générations de cellules et plus d'un milliard de nouvelles bactéries après 11h d'incubation. Chaque division cellulaire assure la copie du génome de la bactérie, contenant le vecteur recombinant qui y a été intégré et donc l'amplification biologique des fragments d'ADN issus de la PCR.

Les cellules transformées doivent être cultivées sur un milieu adéquat, en l'occurrence un milieu Luria-Bertani (LB) broth. Un antibiotique y aura été ajouté, correspondant à la résistance présentée par les cellules transformées. La solution de cellules transformées est alors appliquée sur le milieu de culture figé dans une boîte de Petri. La solution ne contient alors aucune cellule visible et est incubée à 37°C.

Les bactéries ayant intégré des plasmides sans insert sont automatiquement tuées par le gène létal dont l'expression est permise par l'absence d'insert. Aussi, seules des colonies de clones portant la séquence d'intérêt préalablement insérée au vecteur, se développent sur les plaques de milieu LB pendant l'incubation et deviennent visibles à l'œil nu. D'autre part, toute contamination bactérienne du milieu de culture sera tuée par l'antibiotique ajouté au milieu. Une ou plusieurs colonies de clones peuvent alors être repiquées de leur milieu de culture et leurs plasmides purifiés. La présence des inserts sera contrôlée par électrophorèse et l'ADN purifié pourra alors être séquencé en utilisant des couples d'amorces ciblant les fragments de vecteur de part et d'autre de l'insert.

Purification des plasmides par Miniprep

Les nombreux inserts contenus dans les colonies repiquées doivent être purifiés. Cette purification exploite les propriétés respectives des plasmides bactériens et de l'ADN chromosomique afin de les séparer les uns des autres puis du reste du contenu cellulaire et des membranes bactériennes.

L'exposition de la colonie repiquée à un détergent classique (la SDS) permet de lyser la membrane lipidique des bactéries et d'en faire sortir le contenu. A cette solution est ajoutée de l'hydroxyde de sodium dénaturant indistinctement l'ADN chromosomique et les plasmides. Cependant, l'ADN chromosomique est dénaturé en deux simple-brins distants l'un de l'autre, alors que les deux brins des plasmides restent partiellement liés l'un à l'autre comme deux maillons d'une chaîne. Une solution d'acétate de potassium et d'acide acétique permet de précipiter l'ADN chromosomique avec la SDS, et la majorité des débris cellulaires et de neutraliser l'action de l'hydroxyde de sodium. A pH neutre, l'effet de dénaturation est dissipé et les très longs brins de l'ADN chromosomique emprisonnés avec les débris cellulaires ne s'hybrident que partiellement, alors que les anneaux des plasmides, courts et restés en solution, s'hybrident à nouveau complètement l'un à l'autre. Les débris contenant l'ADN chromosomique sont retirés par centrifugation : ils forment un précipité insoluble alors que les plasmides restent en solution dans le surnageant. Les plasmides sont à leur tour précipités à l'éthanol ou à l'isopropanol puis lavés et séchés avant d'être suspendus en solution tampon.

Les plasmides ainsi purifiés peuvent être traités avec une enzyme de restriction clivant les plasmides de part et d'autre du fragment inséré, et le produit de digestion ainsi obtenu peut être contrôlé sur gel d'électrophorèse. La mise en œuvre de l'électrophorèse et la visualisation de ses résultats suivent alors exactement les mêmes principes que présentés précédemment pour les produits PCR. La présence de fragments de la taille attendue indique le succès probable du clonage, et le produit de Miniprep peut être séquencé. L'ajout d'un fragment de vecteur de quelques dizaines de paires de bases de part et d'autre de l'insert assure que la réaction de séquençage n'oblitérera pas la séquence d'intérêt.

Protocole suivi

Extraction d'ADNa

Le travail réalisé en paléogénétique au cours de cette thèse a englobé deux projets correspondant à deux approches distinctes, basée respectivement sur 1) l'extraction complète d'ADN sédimentaire, l'amplification par PCR simplex, le clonage et le séquençage Sanger et 2) l'extraction complète d'ADN sédimentaire, l'enrichissement et le séquençage nouvelle génération (NGS). Dans cette section, seule la première approche est présentée en détails. Le séquençage des fragments obtenus, pratiqué dans un laboratoire tiers, n'est pas présenté.

Design expérimental

L'approche présentée ici a suivi le *design* expérimental résumé ci-dessous (Figure 12).

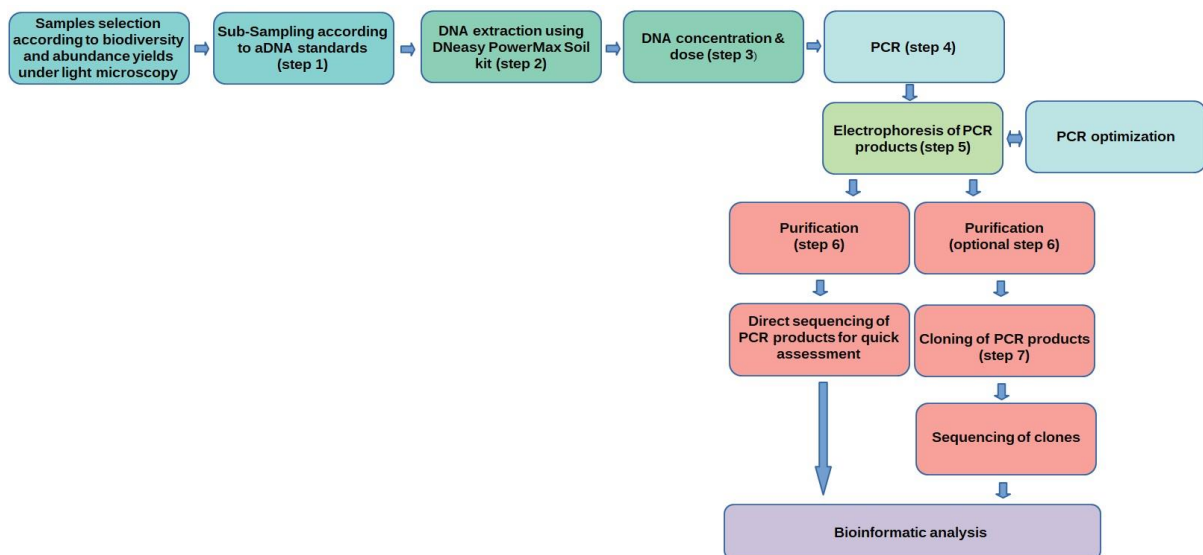


Figure 12 Après sélection des échantillons en fonction de la diversité et de la quantité d'oeufs préalablement observés sous microscope, l'ADN total est extrait à l'aide du kit DNeasy PowerMax Soil (Qiagen) et les produits d'extraction obtenus amplifiés par PCR simplex ciblant les taxons recherchés. Les échantillons positifs sur gel d'électrophorèse sont purifiés et clonés puis séquencés (étape externalisée) et les séquences obtenues traitées informatiquement.

Sous-échantillonnage

Les échantillons préalablement étudiés en microscopie optique ont été sélectionnés en vertu du nombre de taxons parasitaires observés et/ou du nombre d'œufs observés sous microscope. Certains échantillons n'ayant livré aucun œuf sous microscope ont également été sélectionnés afin de tester la disponibilité de l'ADN ancien d'helminthes gastrointestinaux en l'absence de toute trace microscopique observée. Le sous-échantillonnage a été pratiqué dans une pièce dévolue à la préparation classique des échantillons paléoparasitologiques à l'aide de matériel préalablement stérilisé à la javel et à l'eau pour chaque échantillon, et placés dans des contenants propres (minigrip). La pailleuse a été stérilisée et la balance nettoyée entre chaque échantillon. La pesée est faite sur une nacelle à usage unique pour chaque échantillon. Un minimum de 10 gr de sédiment par échantillon initial a été sous-échantillonné.

Ces sous-échantillons ont ensuite été transférés dans une pièce séparée dévolue à l'extraction d'ADN et stockés à 2-4C° jusqu'à leur préparation.

Extraction d'ADN

L'extraction d'ADN a été pratiquée avec le kit *DNEasy PowerMax Soil* (Qiagen). Les recommandations du fabricant ont été suivies afin de procéder à l'extraction totale de l'ADN environnemental contenu dans l'échantillon, ancien comme moderne.

Chaque échantillon initial a fait l'objet d'une double extraction, nécessitant 2 x 5 gr de sédiment préalablement sous-échantillonné. Le protocole suivant a ainsi été appliqué pour chaque extraction :

1. Ajout de 5 gr de sédiment à un tube PowerBead 50 ml
2. Ajout de 15 ml de solution PowerBead au tube contenant le sédiment
3. Vortex du tube, 1 minute
4. Ajout de 1,2 ml de solution C1 au tube PowerBead
5. Vortex du tube, 30 secondes
6. Vortex additionnel du tube, 10 minutes à puissance maximum
7. Centrifugation à 4500 g, 3 minutes, température ambiante
8. Transfer du surnageant dans un tube 50 ml propre
9. Ajout de 5 ml de solution C2, inversion, et incubation 10 mins à 2-8° C
10. Centrifugation à 4500 g, 4 minutes, température ambiante
11. Transfer du surnageant dans un tube 50 ml propre
12. Ajout de 4 ml de solution C3, inversion, et incubation 10 mins à 2-8° C
13. Centrifugation à 4500 g, 4 minutes, température ambiante

14. Transfer du surnageant dans un tube 50 ml propre
15. Ajout de 30 ml de solution C4, inversion
16. Transfer dans une colonne MB Maxi Spin
17. Centrifugation à 4500 g, 2 minutes, température ambiante (répété autant que nécessaire avec vidange systématique du filtrat entre chaque centrifugation jusqu'à filtration complète de tout le volume obtenu à l'étape 15)
18. Ajout de 10 ml de solution C5 à la colonne
19. Centrifugation à 2500 g, 3 minutes, température ambiante et vidange du filtrat
20. Transfert de la colonne MB Spin dans un tube 50 ml propre
21. Ajout de 5 ml de solution C6 au centre de la colonne MB Maxi Spin
22. Centrifugation à 4500 g, 3 minutes, température ambiante
23. Retrait de la colonne MB Maxi Spin.
24. Stockage à -20° C

Une extraction à blanc, où le sédiment a été remplacé par un volume d'eau stérile, a été pratiquée avec chaque lot d'extractions.

Concentration et dosage

Pour l'obtention d'un volume utilisable à la concentration connue et la vérification de la pureté des extractions, les produits d'extractions préalablement obtenus (5 ml) ont été concentrés et dosés. Ainsi :

1. Ajout de 0,5 ml d'acétate de sodium à 3M pH 5,5 au produit d'extraction
2. Ajout de 16,5 ml d'éthanol 95-100%
3. Stockage 24h à -20° C
4. Centrifugation à 14500 rpm, 30 minutes en chambre froide
5. Retrait du surnageant et séchage de la pelote à l'air
6. Suspension de la pelote dans 100 µl de solution C6
7. Calibration du spectrophotomètre sur 2 µl de solution C6
8. Dosage de 2 µl de la solution de concentration
9. Préparation d'un aliquot de travail à 5 ng / µl
10. Stockage à -20C°

Amplification

Pour l'amplification par PCR simplex de l'ADN ancien préalablement extrait avec l'ADN total contenu dans l'échantillon, la solution d'amplification *AccuStart II ToughMix* (Quantabio) a été utilisée. Les préparations enzymatiques ont été faites dans un espace dédié. Ainsi, pour chaque produit d'extraction :

1. Ajout de 8,5 µl d'eau *DNase free* à un tube PCR
2. Ajout de 2 µl de *primers* adéquat (cf. Côté *et al.*, 2016)
3. Ajout de 2 µl de substrat
4. Ajout de 12,5 µl de solution *ToughMix*

Pour la préparation de plusieurs réactions PCR à la fois, la méthode du *Master-Mix* a été employée pour la confection des solutions enzymatiques de sorte à éviter les contaminations croisées, et les volumes cités précédemment ont été adaptés en conséquence. Les tubes PCR ont ensuite été placés au thermocycleur avec le programme adéquat pour chaque couple d'amorce.

Les PCR ont été tripliquées pour chaque paire d'amorce par extraction. Une PCR a blanc, ne contenant pas de substrat, a été incluse à chaque programme. Aucun contrôle positif moderne n'a été inclus.

Électrophorèse sur gel

À l'issue des PCR, les produits d'amplification ont été visualisés sur gel d'agarose (TAE) à 2-3,5% (selon la longueur des amplicons recherchés) à l'aide d'agent intercalant *SybrGold* (Invitrogen). L'électrophorèse a été conduite durant 35 minutes à 75 volts. Les échantillons présentant sous illuminateur Bio-Rad des amplicons de longueur attendue ont été sélectionnés pour leur séquençage.

Purification Gel/PCR

Les échantillons présentant des bandes aux longueurs attendues, mais également de nombreuses bandes parasites ont fait l'objet d'une purification sur gel afin d'extraire les fragments désirés. L'extraction sur gel lorsque nécessaire a été pratiquée avec le kit d'extraction *FastGene Gel/PCR* (Nippon Genetics) en suivant les recommandations du fabricant. Pour ce faire, chaque produit d'amplification le nécessitant a fait l'objet d'une nouvelle électrophorèse sur gel d'agarose (TAE) à 2%, sur un gel individuel de sorte à éviter les contaminations croisées. Après migration, le protocole suivant a été appliqué :

1. Visualisation du gel sur illuminateur (aussi brève que possible pour limiter l'exposition des fragments aux UV)
2. Excision sous lumière blanche de la zone préalablement repérée sur illuminateur (excision au scalpel stérile (éthanol 100%) en retirant le maximum de gel)

3. Transfer de la bande excisée dans un tube 1,5 ml
4. Ajout de 500 µl de solution GP1
5. Vortex du tube contenant le gel et la solution GP1
6. Incubation 15 minutes à 55°C, inversion toutes les 2 minutes
7. Ajout de 800 µl de la solution obtenue dans une colonne *Fast Gene GP*
8. Centrifugation à 13000 rpm, 30 secondes
9. Retrait du filtrat
10. Ajout de 600 µl de solution GP2 à la colonne *Fast Gene GP*
11. Centrifugation à 13000 rpm, 30 secondes
12. Retrait du filtrat
13. Centrifugation à 13000 rpm, 2 minutes
14. Transfer de la colonne dans un tube 1,5 ml propre
15. Ajout de 25 µl de solution GP3 au centre de la membrane de la colonne
16. Incubation 2 minutes à température ambiante
17. Centrifugation à 13000 rpm, 2 minutes
18. Retrait de la colonne
19. Stockage à -20°C

Les produits PCR destinés à un séquençage direct, lorsque souhaité (afin de tester rapidement la présence d'un taxon très ubiquiste), et ne présentant pas de bandes parasites après visualisation sur gel, ont été purifiés à l'aide du kit *QIAquick Nucleotide Removal* (Qiagen). Le protocole recommandé par le fabricant a été suivi, ainsi pour chaque produit PCR :

1. Ajout de 10 volumes de solution PNI pour 1 volume de produit PCR
2. Ajout du mix obtenu dans une colonne QIAquick spin
3. Centrifugation à 6000 rpm, 1 minute
4. Retrait du filtrat
5. Ajout de 700 µl de solution PE
6. Centrifugation à 6000 rpm, 1 minute
7. Retrait du filtrat

8. Centrifugation à sec à 13000 rpm, 1 minute
9. Transfer de la colonne QIAquick spin dans un tube 1,5 ml propre
10. Ajout de 50 µl de solution EB au centre de la membrane
11. Centrifugation à sec à 13000 rpm, 1 minute
12. Retrait de la colonne
13. Stockage à -20°C

Sauf mention contraire, toutes les opérations ont lieu à température ambiante.

Clonage

Insertion, transformation des cellules compétentes et mise en culture

Les produits PCR ou produits de purification sur gel qui n'étaient pas destinés au séquençage direct ont été clonés de sorte à fiabiliser le séquençage Sanger. À cette fin, le kit de clonage bactérien *pJET1.2/blunt Cloning Vector* (Thermo Scientific) a été utilisé afin de transformer des cellules compétentes d'*Escherichia coli* DH10B.

Des milieux de culture stériles Luria Bertani (LB) Broth ont préalablement été préparés en quantité suffisante. L'agar chauffé a été versé en boîtes de Petri auxquelles ont été ajoutés 100 µg mL⁻¹ d'ampicilline préalablement aliquotée afin d'éviter les contaminations. La préparation des milieux a été faite sous flamme.

L'enzyme polymérase utilisée pour la PCR produisant des fragments collants, le protocole d'émoussement a été suivi pour la préparation des inserts :

1. Ajout de 1 µl de produit PCR dans un tube 1,5 ml
2. Ajout de 10 µl de *Reaction Buffer 2x*
3. Ajout de 6 µl d'eau *DNase free*
4. Ajout de 1 µl d'enzyme d'émoussement
5. Vortex bref et centrifugation 3-5 secondes
6. Incubation à 70°C, 5 minutes
7. Conservation et manipulation sur glace
8. Ajout de 1 µl de solution *pJET1.2/blunt Cloning Vector* à 50 ng / µl
9. Ajout de 1 µl de Ligase T4
10. Vortex bref et centrifugation 3-5 secondes
11. Incubation 5 minutes à température ambiante

12. Décongélation des cellules compétentes DH10B sur glace (stockées à -80°C)
13. Ajout de 50 µl de cellules compétentes au mix conservé sur glace
14. Ajout de 5 µl de vecteur
15. Bref secouement
16. Incubation 30 minutes sur glace
17. Choc thermique 30 secondes dans bain-marie à 42°C
18. Incubation 2 minutes sur glace
19. Transfer en tube de culture 30 ml
20. Ajout de 250 µl de Medium SOC à température ambiante
21. Incubation à 225 rpm, 60 minutes à 37°C
22. Distribution en boîtes de Petri (20 à 220 µl / boîte) sous flamme
23. Incubation 24h à 37°C

Purification des clones

Une à deux colonies de clones sont sélectionnées par boîte de Petri après incubation pour extraction des plasmides bactériens. Le kit d'extraction *GeneJET Plasmid Miniprep* (Thermo Scientific) a été utilisé à cet effet en suivant les recommandations du fabricant :

1. Ajout de 250 µl de solution de suspension
2. Vortex jusqu'à suspension complète de la pelote de cellules
3. Ajout de 250 µl de solution de lyse, inversion 4 à 6 fois
4. Ajout de 350 µl de solution de neutralisation, inversion 4 à 6 fois
5. Centrifugation à 14000 rpm, 5 minutes
6. Transfer du surnageant dans une colonne GeneJET spin
7. Centrifugation à 14000 rpm, 1 minute
8. Retrait du filtrat
9. Ajout de 500 µl de solution de lavage
10. Centrifugation à 14000 rpm, 1 minute
11. Retrait du filtrat

12. Répétition points 9-10-11
13. Centrifugation à sec, 1 minute
14. Transfer de la colonne GeneJET spin dans un tube 1,5 ml propre
15. Ajout de 25 µl de solution d'éluion au centre de la membrane
16. Incubation 2 minutes à température ambiante
17. Centrifugation à 14000 rpm 2 minutes
18. Retrait de la colonne
19. Stockage à -20°C

Digestion enzymatique

Afin de vérifier la présence d'inserts, les plasmides bactériens obtenus lors de l'extraction Miniprep ont été digérés avec l'enzyme BglII (Thermo Scientific). Ainsi :

1. Ajout de 14,5 µl d'eau *DNase free* à un tube 1,5 ml
2. Ajout de 2 µl de solution tampon
3. Ajout de 1,5 µl d'enzyme BglII
4. Ajout de 2 µl de substrat (produit Miniprep)
5. Secouement léger
6. Incubation 1 heure à 37°C

Le produit de digestion est ensuite visualisé sur gel comme décrit précédemment. Les échantillons montrant des bandes aux longueurs attendues sont sélectionnés pour le séquençage.

Protocole de recherche de paléo-antigènes

Le test ELISA (*Enzyme-Linked Immuno Assay*) *Entamoeba histolytica* II (Techlab) a été employé à la recherche de l'amibe pathogène *E. histolytica*. En effet, les kystes d'amibes qui pourraient être observés sous microscope sont très difficilement discernables et identifiables dans des échantillons de sédiments par ailleurs riches en particules minérales et biologiques. De ce fait, différents kits de diagnostic immunologique normalement utilisés en clinique moderne sont régulièrement employés en paléoparasitologie pour la détection d'unicellulaires, notamment intestinaux en ce qui concerne le kit *E. histolytica*. Ce kit présente l'avantage d'être facile de mise en œuvre et donne la possibilité de détecter des parasites très rarement observés sous microscope. En revanche, il n'est pas particulièrement adapté à la détection de molécules anciennes potentiellement très dégradées et diluées dans des échantillons de sédiment. Le kit a effectivement été développé pour la détection

d'antigènes modernes dans des échantillons de selles fraîches, et son utilisation en contexte paléoparasitologique nuit inévitablement à sa sensibilité.

Mise en œuvre du kit Entamoeba histolytica II

Ce test est opéré sur une plaque de microdosage comportant 96 puits tapissés d'anticorps polyclonaux anti-adhésines d'*E. histolytica*. Deux de ces puits sont utilisés respectivement pour un contrôle positif (fourni par le fabricant) et un contrôle négatif (auquel aucun échantillon est ajouté). Chaque échantillon paléoparasitologique est testé trois fois, et utilise donc trois puits différents.

Pour sa mise en œuvre, les spécifications du fabricant ont été suivies sans modifications. Ainsi, les échantillons ont été élués dans de l'eau déminéralisée puis 200 µl d'échantillon élué ont été ajoutés à chaque puits de microdosage. La plaque est alors scellée et laissée à incuber à température ambiante pendant deux heures. À l'issue de l'incubation, le contenu des puits est jeté et rincé à l'aide de la solution de lavage à la pipette multicanaux. L'opération est répétée trois fois supplémentaires.

À l'issue du rinçage, 100 µl de solution substrat sont ajoutés à chaque puits alors laissés à incuber pendant 10 minutes. Les puits sont légèrement agités à mi-temps. Après incubation, 50 µl de solution d'arrêt sont ajoutés à chaque puits et la réaction enzymatique fait alors passer la solution du bleu au jaune.

La densité de la couleur obtenue est mesurée sur un lecteur de microplaques ELISA (µQuant MQX200 – Bio-Tek Instruments) à 450 nm, calibré sur l'air et relié à un ordinateur. La densité optique (DO) est obtenue avec le logiciel KC4 2.5 (Bio-Tek Instruments) et le test est considéré comme positif lorsque la valeur de DO est supérieure ou égale à 0,500 et que le contrôle négatif présente une DO inférieure ou égale à 0,150.

PARTIE III : Résultats et données paléontologiques, biologiques, épidémiologiques et pathologiques des helminthes observés.

Introduction

Cette partie du présent volume décrit les espèces ou groupes de parasites effectivement détectés au cours de ce travail, par la microscopie ou l'extraction d'ADN. Ceci ne concerne donc que des helminthes, terme employé par facilité langagière pour regrouper les métazoaires endoparasites (mais pas seulement) vermiformes. Ce terme ne recoupe cependant pas un groupe taxonomique valide, et ces parasites se trouvent distribués au sein de plusieurs phylums. Les observations faites au cours de cette thèse concernent les phylums des Nématodes, des Plathelminthes, et des Acanthocéphales. Une grande diversité biologique caractérise donc cet assemblage comprenant différents clades de protostomiens (Blair, 2009), respectivement des ecdysozoaires (Nématodes) et lophotrochozoaires (Plathelminthes et Acanthocéphales) qui varient fortement sur le plan anatomique (acoelomates, pseudocoelomates...), écologique (parasites aquatiques, strictement terrestres...), ou du point de vue de leurs conséquences pathologiques chez les hôtes infestés (asymptomatiques, létales...).

Sites	Méthode	Nématodes	Trématodes	Acantocéphales
Délos*	M	Oui	Oui	Non
	ADNa	Oui	Non	ND
Florence*	M	Oui	Non	Non
	ADNa	Oui	Oui	ND
Asi Gonja*	M	Oui	Oui	Oui
	ADNa	ND	ND	ND
Mare Stagno	M	Oui	Non	Non
	ADNa	ND	ND	ND
La Biagiola	M	Oui	Non	Non
	ADNa	ND	ND	ND
Kardamaina	M	Oui	Non	Non
	ADNa	ND	ND	ND
Labraunda	M	Oui	Non	Non
	ADNa	ND	ND	ND
Utique	M	Oui	Non	Non
	ADNa	ND	ND	ND
Pollentia	M	Oui	Non	Non
	ADNa	ND	ND	ND
Baelo Claudia	M	Oui	Non	Non
	ADNa	ND	ND	ND

Tableau 3 Détection des trois classes d'helminthes observées au cours de ce travail par la microscopie (notée M) et la paléogénétique (notée ADNa) sur les dix sites archéologiques du corpus ayant livré des résultats. Les sites marqués d'un astérisque font l'objet d'un chapitre qui leur est consacré dans la partie IV du manuscrit.

Chapitre 1 : Les Nématodes (Nemata)

Sites	Méthode	Nématodes				
		<i>Ascaris</i> sp./ Ascaridés	<i>Trichuris</i> spp./ Trichocéphalidés	Strongles	<i>Capillaria</i> spp.	<i>E.</i> <i>vermicularis</i>
Délos*	M	Oui	Oui	Oui	Non	Non
	ADNa	Oui	Oui	ND	ND	Oui
Florence*	M	Oui	Non	Non	Non	Non
	ADNa	Oui	Oui	ND	ND	Non
Asi Gonia*	M	Oui	Oui	Oui	Oui	Non
	ADNa	ND	ND	ND	ND	ND
Mare Stagno	M	Oui	Non	Oui	Non	Non
	ADNa	ND	ND	ND	ND	ND
La Biagiola	M	Oui	Non	Oui	Non	Non
	ADNa	ND	ND	ND	ND	ND
Kardamaina	M	Oui	Non	Oui	Non	Non
	ADNa	ND	ND	ND	ND	ND
Labraunda	M	Oui	Oui	Non	Non	Non
	ADNa	ND	ND	ND	ND	ND
Utique	M	Oui	Non	Non	Non	Non
	ADNa	ND	ND	ND	ND	ND
Pollentia	M	Oui	Oui	Non	Non	Non
	ADNa	ND	ND	ND	ND	ND
Baelo Claudia	M	Oui	Non	Non	Non	Non
	ADNa	ND	ND	ND	ND	ND

Tableau 4 Détection des nématodes observés au cours de ce travail par la microscopie (notée M) et la paléogénétique (notée ADNa) sur les dix sites archéologiques du corpus ayant livré des résultats. Les sites marqués d'un astérisque font l'objet d'un chapitre qui leur est consacré dans la partie IV du manuscrit.

Phylogénie et origine des Nématodes

La phylogénie exacte des nématodes n'est pas encore parfaitement consensuelle. En effet, si l'on peut parler « des nématodes » pour référer aux vers ronds, qu'ils soient parasites des vertébrés, des invertébrés, des plantes, ou microbotrophiques, il est de fait toujours possible de les voir classés différemment. Trois classifications phylogénétiques se distinguent :

- les Nématodes (ou Nemata), comme embranchement distinct
- les Nématodes, groupés avec les Rotifères et les Nématomorphes dans le phylum des Aschelminthes
- les Nématodes, groupés avec les Nématomorphes dans le phylum des Nemathelminthes.

Quelle que soit la classification retenue, le terme « nématode » renvoie toujours aux vers ronds, parasites ou libres, distincts des annélides (le groupe des animaux segmentés coelomates auquel appartiennent les lombrics). Par ailleurs, aucun nématomorphe n'a été étudié dans le cadre de ce manuscrit, et le terme « nématode » renverra ainsi chaque fois qu'il sera utilisé au sens phylogénétique le plus stricte.

Le registre paléontologique des nématodes parasites est loin d'être inexistant. Tout comme pour une époque aussi récente que l'Holocène, la préservation de restes d'helminthes et leur potentiel de fossilisation sont grandement contraints pour des époques géologiques plus anciennes, et ce en dépit de la grande taille pouvant être atteinte (plusieurs mètres) par certaines espèces (Yeates et Boag, 2006). Cette difficulté provient principalement des tissus mous facilement et rapidement dégradés composant l'essentiel du corps de ces organismes (Littlewood et Donovan, 2003). Néanmoins, certaines structures rigides tels les œufs chitineux des nématodes ovipares permettent non seulement leur préservation en contexte archéologique, mais également leur observation à des époques beaucoup plus anciennes, bien que plus rarement observés (Poinar et Boucot, 2006 ; Da Silva *et al.*, 2014 ; Hugot *et al.*, 2014).

En dehors des coprolithes vrais, qui peuvent être distingués de leur pendant archéologique comme étant des fèces complètement perminéralisés, le registre fossile des nématodes a de surcroît fourni un grand nombre d'ambres contenant de tels parasites et datés de différentes périodes, du Crétacé (130-135 Ma) au Miocène (15-20 Ma), et récemment passés en revue par George Poinar (2015). L'un de ces nématodes fossiles est particulièrement notable de par sa conservation et son ancienneté, puisqu'il constitue à notre connaissance le plus ancien fossile de ce type : un nématode phytoparasite observé dans la chambre sous-stomatique d'un tissu végétal perminéralisé du gisement fossilifère du Chert de Rhynie près d'Aberdeenshire en Écosse. Poinar *et al.* (2008) ont ainsi rapporté l'observation d'œufs, ainsi que de stades juvéniles et adultes de *Palaeonema phyticum* parasitant une plante terrestre (*Aglaophyton major*) de ce dépôt sédimentaire du Dévonien Inférieur (396 Ma), faisant de ce fossile la plus ancienne trace d'association entre des plantes terrestres et des animaux terrestres, et une étape précoce de l'évolution du phytoparasitisme par les nématodes ainsi que leur présence en milieu terrestre (Poinar, 2015). Il semble s'agir à ce jour de l'unique et plus ancienne observation du parasitisme par des nématodes pour le Paléozoïque.

Les plus anciens fossiles de nématodes pour le Mésozoïque concernent des animaux vertébrés et invertébrés. Les plus anciens concernent des coprolithes Triasiques associés à des cynodontes du Brésil et incluent l'ascaridé *Ascarites rufferi*, et l'oxyuridé *Paleoxyuris cockburmi* décrits pour l'occasion (Da Silva *et al.*, 2014 ; Hugot *et al.*, 2014). Le plus ancien fossile concernant l'association aux invertébrés est celui d'un mermithide, *Cretacimermis libani*, qui, comme son nom l'indique, a été découvert dans une pièce d'ambre du Liban du Crétacé Inférieur (130 Ma). De fait, un nombre non négligeable d'ambres de Birmanie et datant également du Crétacé Inférieur, ont fourni les fossiles de nématodes entomopathogènes s'extrayant d'une grande diversité d'insectes hôtes alors pris et mourant dans la résine encore fraîche, mais également de mollusques et de plantes (Poinar, 2006 ; 2011 ; 2015).

Les ambres de la Baltique datés du Cénozoïque Inférieur ont donné lieu au même type d'observations. On peut notamment citer à cette occasion l'observation du microfilaire *Cascofilaria baltica* associé à une mouche hématophage, et tombant dans la variation de taille

actuelle des filaires du genre *Onchocerca*. Ces filaires infestent les mammifères (dont les humains) et sont vectorisés par ces insectes piqueurs par ailleurs très présents dans les ambres de la Baltique (simuliidés et ceratopogonidé) (Poinar 2011 ; 2012). Il s'agit à notre connaissance du plus ancien fossile de filaire à ce jour (Poinar, 2015).

À nouveau, les ambres Dominicains datés de l'Oligocène et du Miocène ont livré des observations similaires. Mais alors que la plupart des nématodes observés dans de l'ambre concernent des stades adultes ou juvéniles fuyant leur hôte mourant, on peut noter ici l'observation d'un grand nombre d'œufs échappant de l'abdomen d'une fourmi du genre *Cephalotes*, témoignant probablement de l'existence ancienne du cycle de l'actuel *Myrmeconema neotropicum* qui induit la manipulation parasitaire de son hôte *Cephalotes atratus* en poussant celui-ci, à l'abdomen alors anormalement gonflé et coloré (ressemblant à une baie), à s'exposer au sommet d'une brindille à la prédation des oiseaux (Poinar et Yanoviak, 2008 ; Poinar, 2011).

L'ancienneté de cycles parasitaires, mais également la modification de tels cycles peut éventuellement être observée au travers du registre fossile, comme suggéré par le registre Pliocène ayant livré un mermithide (*Heydenius tabanae*) émergeant d'un taon (probable *Tabanus sudeticus* toujours existant) au stade adulte alors que seules les larves de cet insecte sont actuellement connues pour être parasitées par ces nématodes (Poinar, 2015).

Le registre Pléistocène a également fourni des exemples de relations hôtes-parasites éteintes impliquant les nématodes. Parmi celles-ci, on peut relever la plus ancienne mention d'œufs du genre *Trichuris* dans les coprolithes du rongeur cavidé *Kerodron rupestris* au Brésil et datés de 30 000 ans (Ferreira *et al.*, 1991). De nos jours, les rongeurs de cette région ne sont pas infestés par le trichocéphale. Les relations hôtes-parasites disparues peuvent également s'observer par l'étude des coprolithes de la mégafaune pléistocène éteinte, comme dans le cas des coprolithes du paresseux terrestre de Shasta (*Nothrotheriops shastensis*) de Rampart Cave en Arizona, datés de 10 000 ans et ayant livré des vers juvéniles de type oxyuridé et strongyloïdé après réhydratation ainsi que des œufs d'helminthes, notamment de type toxascaridé (Schmidt *et al.*, 1992). Le Pléistocène a également fourni la plus ancienne observation de nématodes parasites associés à l'espèce humaine, âgés de 30 000 à 24 000 ans sur le site de la grotte d'Arcy-sur-Cure (Bouchet *et al.*, 1996). Ces observations ne sont cependant pas assez anciennes pour véritablement éclairer l'acquisition des nématodes par *Homo sapiens*, alors que l'étude des nématodoses intestinales chez les primates non-humains actuels suggère qu'elles pourraient toutes, en principe, avoir été héritées chez les humains modernes depuis leurs ancêtres (Dupain *et al.*, 2009 ; Kaur et Singh, 2009) ou via la domestication (Poinar, 2015).

Ce registre fossile des nématodes, bien que plus important que celui des autres helminthes parasites discutés *infra*, et dont ont été présentés ici quelques jalons non exhaustifs, permet de dater à minima certaines associations hôtes-parasites. L'ancienneté du parasitisme chez les plantes terrestres est bien attestée dès le Paléozoïque. En revanche, l'émergence du parasitisme chez les animaux, notamment invertébrés terrestres, manque de fossiles très anciens, et il est possible de supposer que celui-ci a au moins émergé avec le groupe actuellement parasité le plus archaïque (Poinar, 2011), soit celui des millipèdes dont le registre fossile connu remonte au Silurien (Wilson et Anderson, 2004). De surcroît, ce parasitisme était certainement déjà présent chez les invertébrés marins du Cambrien (Poinar, 2015). Similairement, les premiers vertébrés parasités ont certainement été marins,

notamment parmi les élasmobranches (Poinar, 2014) dont l'infestation par les plathelminthes a par ailleurs été mise en évidence (Dentzien-Dias *et al.*, 2013). Ce registre fossile n'éclaire pas non plus l'émergence de l'hétéroxénie chez les nématodes, bien qu'il soit là encore possible de supposer que les groupes d'hôtes les plus ancestraux ont été à l'origine des cycles monoxènes, et que ceux-ci se sont complexifiés avec l'apparition de nouveaux groupes d'hôtes comme les vertébrés (Poinar, 2011 ; 2015). Ainsi, prenant l'exemple des nématodes de la famille des Spiruridés, le recours au plus ancien registre fossile d'hôtes connu ainsi qu'aux horloges moléculaires place les plus anciens hôtes vertébrés au Crétacé et les plus anciens hôtes invertébrés au Carbonifère (Poinar, 2011). Les données moléculaires et paléontologiques peuvent cependant entrer en contradiction, comme le note Poinar (2015). Ainsi, les horloges moléculaires tendent à placer l'origine des ascaridés au Jurassique (Blaxter, 2009), alors que les données paléontologiques attestent leur présence dès le Trias (Da Silva *et al.*, 2014). En tout état de cause, l'ubiquité des nématodes actuels et fossiles, tout comme les données moléculaires (Blaxter et Koutsovoulos, 2015), pointent clairement vers l'apparition multiple et convergente du parasitisme à de nombreuses reprises chez les nématodes, au moins trois fois chez les plantes, dix fois chez les animaux invertébrés, et cinq fois chez les animaux vertébrés. Ces chiffres sont par ailleurs certainement à revoir à la hausse (Poinar, 2015), considérant notamment les données morphologiques pointant une vingtaine d'apparitions indépendantes de nématodes parasites chez les insectes (Sudhaus, 2008 ; 2010).

La comparaison anatomique entre espèces libres et parasites fait apparaître une grande similarité entre les deux modes de vie, et alimente l'hypothèse de l'uniformité ancestrale, à savoir l'origine communément libre de tous les nématodes, chez qui certaines espèces utilisant des hôtes temporaires pour le transport se sont peu à peu vues isolées de leur population d'origine par le déplacement de leurs hôtes, conduisant ainsi à leur spéciation parasitaire. Cependant, les nématodes parasites sont globalement très ubiquistes et peu dépendants d'une seule espèce d'hôte.

Biologie des Nématodes

Les nématodes sont des vers cylindriques effilés aux deux extrémités souvent décrits comme un tube dans un tube. Le tube extérieur constitue la paroi corporelle composée de l'extérieur vers l'intérieur de la cuticule protectrice et métaboliquement active, de l'hypoderme responsable de la croissance de cette cuticule et du maintien des cordes dorso-ventrales et latérales, et des muscles somatiques longitudinaux. A l'intérieur de ce tube se trouve le deuxième tube qui constitue un système digestif complet s'ouvrant par une bouche à l'extrémité antérieure, connectée à un œsophage puis un intestin et débouchant sur un anus à l'extrémité caudale pour la femelle ou un cloaque pour le mâle. L'espace entre ces deux tubes est rempli de fluide (le liquide cœlomique) et contient les organes reproducteurs. Ceux-ci débouchent sur la vulve chez les femelles et d'où sont excrétés les œufs recherchés en paléoparasitologie, et sur le cloaque chez les mâles. Chez ces derniers, le cloaque héberge également des spicules destinés à maintenir ouverte la vulve de la femelle durant la reproduction.

Le dimorphisme sexuel concerne donc les organes reproducteurs, mais également la taille des vers adultes, puisque les femelles sont généralement plus grandes que les mâles. Chez l'*Ascaris* par exemple, la femelle mesure de 20 à 30 cm de long, alors que le mâle n'en mesure qu'une quinzaine. Le dimorphisme de taille peut également être très important entre

différentes espèces de nématodes. En effet, alors que l'une des plus petites espèces, le ver marin *Greefiella minutum*, ne mesure que 82 µm de long à l'âge adulte, le ver parasite du placenta du cachalot, *Placentonema gigantissima*, peut atteindre 8 m de long et 2,5 cm de diamètre. Il s'agit du plus grand nématode connu à ce jour.

Les nématodes les plus étudiés en paléoparasitologie sont ovipares, car ceux-ci produisent des œufs rigides chitineux qui peuvent, contrairement aux restes constitués de tissus mous, être préservés dans des échantillons anciens et conserver leurs traits morphométriques distinctifs. La plupart des nématodes sont dioïques : les individus portent des organes reproducteurs mâles ou femelles, cette dernière assurant la production des œufs qui seront plus tard observés sous microscope.

Chez la femelle, qui selon l'espèce peut disposer d'un ou de deux ovaires et utérus (monodelphie ou didelphie), ou plus rarement de plus de deux (polydelphie), les oogonies sont produites dans l'ovaire qui constitue le tronçon proximal de son appareil reproducteur. Depuis cette zone germinale, les cellules migrent distalement vers la zone de croissance tout en se transformant en oocytes et en approchant de l'oviducte et de la spermathèque. La méiose et la formation de la coque de l'œuf commencent immédiatement après la pénétration de l'oocyte par un spermatozoïde. L'oocyte sécrète alors une membrane de fertilisation qui en s'épaississant graduellement devient une coque chitineuse. La membrane interne, lipidique, est formée par le zygote. Au cours de la migration de l'œuf dans l'utérus par péristaltisme, une membrane utérine protéique est apposée à sa surface. Cette membrane peut avoir différentes formes selon les espèces, typiquement mamelonnée chez *Ascaris*, et lisse chez le *Trichocéphale*, et qui pourront par la suite devenir des clefs de détermination morphologiques en microscopie.

Les œufs finalement produits consistent généralement chez les nématodes parasites en un embryon enveloppé de trois couches. L'embryon lors de l'oviposition peut être constitué de quelques cellules ou d'un juvénile vermiforme déjà formé. En fonction du stade de développement atteint au moment de la mort de l'organisme et des conditions diagénétiques après son enfouissement, il sera possible d'observer ces différents états lors des recherches paléoparasitologiques. La préservation parfaite de juvéniles ou des blastomères dans de bonnes conditions taphonomiques ne sera donc pas le signe d'une pollution des échantillons par des organismes modernes.

Ascaris sp.

Cycle biologique

L'*Ascaris* est un ver intestinal rond visible à l'œil nu lorsque rejeté dans les selles de son hôte. D'une longueur pouvant atteindre 30 cm, on en connaît la description dans plusieurs sources historiques anciennes, dont le papyrus d'Ebers (Bauduer, 2018).

Deux espèces ont traditionnellement été reconnues, *A. lumbricoides* et *A. summ*, infectant respectivement l'humain et le porc. Mais aucune différence morphologique franche ne vient soutenir sans équivoque cette distinction spécifique, celles-ci n'étant généralement pas reproductibles d'un observateur à l'autre et n'étant pas significativement corrélées à la provenance géographique des individus comparés ni à un hôte en particulier (Galvin, 1968 ; Anderson, 2001). Les œufs sont par ailleurs impossibles à distinguer entre les deux taxons putatifs.

L'analyse des marqueurs moléculaires, notamment ITS1, a permis de déterminer 5 génotypes présents en Chine qui est une importante zone d'endémie de l'ascaridiose humaine et porcine. Parmi ceux-ci, 3 génotypes étaient indistinctement retrouvés chez les humains et les porcs, alors que les deux autres étaient respectivement inféodés à un seul hôte (Peng *et al.*, 2003). Plus récemment, l'analyse de la cible nucléaire ITS1 en Amérique du Sud a montré une grande variabilité interindividuelle ne permettant pas de distinguer différents génotypes par type d'hôte (Lesles *et al.*, 2010). *A contrario*, l'analyse des cibles mitochondriales Cox1 et Nad1 a permis de déterminer 26 haplogroupes en Chine parmi lesquels un seul était retrouvé à la fois chez les humains et chez les porcs (Peng *et al.*, 2005). L'analyse de microsatellites dans la même région a en revanche mis en avant de nombreuses infections croisées et hybridations chez les vers humains et porcins (Zhou *et al.*, 2012). Betson et collègues (2014) ont analysé le gène Cox1 de l'ascaris dans 11 pays différents, mettant en évidence 75 haplogroupes, certains étant plus communément retrouvés chez l'hôte humain, et *vice versa*. Comme relevé par N. Côté (2015), la circulation des haplogroupes semble diverger selon la situation endémique de la parasitose dans la zone concernée : ainsi, en Europe où l'ascaridiose n'est pas endémique, l'haplogroupe observé chez les humains est un haplogroupe habituellement typique du porc, alors qu'en Afrique, où l'ascaridiose est endémique, humains et suidés transportent des *Ascaris* aux haplogroupes différents, dénotant certainement des dynamiques d'infection différentes selon les situations, avec en zone endémique, l'installation d'une barrière génétique.

Il a été proposé que la divergence de résultats selon les marqueurs analysés soit un argument pour l'unicité de l'espèce (Leles *et al.*, 2012). Le débat n'est cependant pas clos, puisque la revue de la littérature par Søe et collègues (2016) tend à montrer que l'analyse des microsatellites et du polymorphisme de longueur des fragments amplifiés (pour lequel on utilise communément l'acronyme anglais, soit AFLP) discrimine effectivement l'origine géographique et les hôtes d'origine des isolats ainsi analysés. Ils soulignent de surcroît que si des hybrides sont effectivement observés, ils ne représentent qu'une très faible part de la population de vers, dénotant certainement l'infertilité des hybrides produits, et permettant une distinction biologique de l'espèce par barrière reproductive (Søe *et al.*, 2016). Comme le notent les auteurs, les outils de séquençage nouvelle génération (NGS pour l'acronyme anglais communément utilisé) permettront sans doute d'éclairer l'histoire évolutive et la spéciation de l'*Ascaris* par la comparaison de génomes complets, notamment en relation avec la domestication en plusieurs vagues du porc à la période néolithique (Larson *et al.*, 2005). A la suite de Mulder (2017), il est important de noter que la paléoparasitologie prend toute sa place dans de telles problématiques en permettant, par la détection d'haplogroupes et d'hybrides éteints, de renseigner l'histoire évolutive de l'une des helminthiases humaines les plus répandues dans le monde, des dynamiques épidémiologiques passées ayant conduit et l'état de spéciation actuel, ainsi que l'histoire de la domestication et des conséquences zoonosiques qui en découlent.

Chez l'humain, les femelles adultes de l'*Ascaris* peuvent pondre jusqu'à 200 000 œufs par jour et par individu. Leur utérus peut contenir jusqu'à 27 millions d'œufs simultanément, dont chacun mesure environ 45-75 µm x 35-50 µm. Les vers adultes se nourrissent d'aliments partiellement digérés par leur hôte dans la lumière du petit intestin de ce dernier. La copulation et l'oviposition se déroulent sur place, de sorte à ce que les œufs soient directement émis dans les selles et disséminés à l'extérieur lors de la défécation de l'hôte. Lors de leur dissémination, les œufs contiennent un zygote non clivé. La division et le développement de l'embryon ne débutent qu'une fois dans le sol et ce dans des conditions

environnementales adéquates. La double-coque de l'œuf, dont la couche externe albumineuse a été colorée par la stercobiline de l'hôte, protège l'embryon durant cette phase de développement environnemental. Ce développement est inhibé si la température du sol est inférieure à 15,5°C, et l'embryon meurt si cette température excède 38°C. Autour de 25°C, l'inhibition du développement est levée et le zygote entame sa division cellulaire. Dans des conditions optimales de température, d'hygrométrie et de niveau d'oxygène, cette phase tellurique aboutit en 2 à 4 semaines à la formation d'un juvénile vermiforme parfaitement visible sous microscope à l'intérieur de l'œuf. Ce stade larvaire est le stade infestant : si ingéré par un hôte adéquat, le parasite pourra poursuivre son cycle de développement. S'il n'est pas ingéré, ce stade larvaire pourra rester viable dans le sol pendant plusieurs années. Les sols pollués constituent donc de véritables réservoirs telluriques. L'œuf infestant ingéré par un humain éclot dans le duodénum de ce dernier. Le juvénile qui en émerge traverse activement la muqueuse intestinale et gagne le système circulatoire d'où il se laisse porter ou migre activement jusqu'au foie par le cœur droit et les poumons. Dans les capillaires pulmonaires, le parasite connaît deux nouvelles mues et stades juvéniles jusqu'à sa migration vers les alvéoles pulmonaires et en direction de la trachée. Le passage du parasite à proximité de l'épiglotte provoque une toux-réflexe qui aboutit à sa deuxième ingestion par l'hôte. De retour dans le petit intestin, le parasite juvénile dont la longueur depuis son éclosion a été multipliée par 10, connaît une quatrième mue essentielle à la poursuite de son développement vers l'état adulte. La maturité sexuelle des vers adultes dans l'intestin de leur hôte aboutit environ 3 mois après l'ingestion des œufs infectants.

Épidémiologie et pathologie

L'ascaridiose est extrêmement cosmopolite et connue dans le monde entier, mais est cependant plus prévalente dans les zones tropicales. Il s'agit de la parasitose (eucaryote) la plus répandue dans la population humaine mondiale, avec plus d'un milliard d'individus infectés actuellement. Les conditions chaudes-humides propices au développement du parasite assurent une certaine hétérogénéité de sa distribution en sein d'une même aire géographique en fonction de ces conditions. La prévalence de l'ascaridiose chez différentes populations d'une même région peut donc varier fortement de l'une à l'autre en fonction de l'humidité et de l'aridité de leur milieu de résidence. Au niveau global, les masses continentales les plus humides additionnent les plus fortes prévalences, à savoir l'Afrique équatoriale, l'Asie, et l'Amérique du Sud. En dehors des conditions physiques de l'environnement, la dissémination est directement conditionnée par de mauvaises conditions sanitaires en l'absence de systèmes d'égouts et de latrines modernes ainsi qu'en état de surpopulation. Toutes les classes d'âge sont touchées, mais la prévalence maximum est globalement observée chez les 5-9 ans qui ne connaissent pas encore les stratégies comportementales d'évitement des infections : lavage des mains et des aliments, jeu en extérieur et coprophagie involontaire, évitement des contacts mains-bouche. Cette dernière route de transmission est par ailleurs le moyen de contamination le plus courant, alors que l'ingestion d'eau polluée ne semble pas être un vecteur principal d'infection. Dans les communautés où des excréments humains sont employés dans la fertilisation des cultures, la consommation de végétaux est une voie de contamination importante.

La plupart des infections à *A. lumbricoides* restent parfaitement asymptomatiques (à hauteur de 85 % des cas). Dans le cas contraire, la symptomatologie peut être douce ou bruyante et létale à court terme. La majorité des cas non silencieux d'ascaridiose conduit à un tableau d'asthme, d'insomnie et dyspepsie. La réaction immunitaire aux métabolites des vers adultes

et des stades juvéniles, ainsi qu'aux adultes morts, peut ajouter certaines démangeaisons et douleurs. La migration transintestinale des juvéniles fraîchement éclos ne provoque pas de problème majeur, mais la sortie des alvéoles pulmonaires peut provoquer hémorragie, toux, et asthme. Un fort portage parasitaire juvénile peut par ailleurs aboutir à la formation de caillots sanguins et provoquer une pneumonite à l'issue fatale, alors qu'un fort portage de parasites adultes peut provoquer l'occlusion intestinale. Un tropisme certain pour l'exploration peut également conduire l'*Ascaris* adulte en dehors de la lumière intestinale, notamment dans les conduits biliaire et pancréatique, à l'origine d'abcès et de pancréatite hémorragique létale. Mais le fardeau majeur du parasitisme à *A. lumbricoides* dans la population mondiale est à rechercher du côté des activités de spoliation nutritionnelle du parasite par la sous-absorption voire la malabsorption causée ou amplifiée par des états de polyparasitisme. Les conséquences en sont globalement des retards de croissance physique et cognitive chez les enfants et l'affaiblissement des conditions générales des individus parasités aboutissant à un accroissement de la mortalité compensatoire au sein de la population.

Ordre des Trichinellida

Les Trichinellida regroupent plusieurs ordres de vers nématodes dont certains sont des parasites d'importance médicale et vétérinaire, notamment les genres *Trichuris* et *Capillaria*, observés au cours de cette thèse.

Trichuris spp.

Cycle Biologique

Les vers du genre *Trichuris* appartiennent à la famille des *Trichuridae*. On les trouve communément appelés *Trichuris* ou Trichocéphales. En effet, la distinction de l'extrémité antérieure et postérieure des vers de ce genre n'a pas été immédiate. Très fin dans une portion de leur corps, ces vers deviennent ensuite beaucoup plus épais, leur donnant un aspect de fouet et leur valant leur nom commun dans la littérature anglophone : *whipworms*. S'il a d'abord été pensé que la partie la plus fine composait l'extrémité postérieure et lui a ainsi valu le nom de *Trichuris* (composé du grec *trichos* = un cheveu et de *oura* = la queue), il a plus tard été découvert que cette partie constituait en réalité l'extrémité antérieure, d'où le réajustement de son nom en Tricocéphale (formé du grec *trichos* = un cheveu et de *kephale* = tête) (Roberts et Janovy, 2008). Les deux termes se trouvent toujours indistinctement utilisés.

Les vers de l'espèce *Trichuris trichiura*, la plus communément détectée au cours de cette thèse, infestent les humains. Les spécimens adultes mesurent de 30 à 50 mm, avec un dimorphisme sexuel de taille aboutissant à des femelles légèrement plus grandes que les mâles. Ces vers sont donc visibles à l'œil nu et peuvent avoir été observés par les populations anciennes. Leur partie antérieure qui est donc la plus effilée compose les 3/5 de la longueur totale du vers adulte pour un diamètre de 100 µm, alors que la partie restante composant l'extrémité postérieure possède un diamètre de 500 µm (Bourrée, 1996). L'utérus de la femelle contient une grande quantité d'œufs non embryonnés dont la forme caractéristique dite « en citron » sera un critère de détermination morphologique sous microscope. De forme ovale et mesurant environ 50 x 23 µm, ces œufs possèdent une coque épaisse de coloration jaune à brune et de surface lisse. Ils sont par ailleurs munis à chaque extrémité d'un bouchon muqueux qui sera dissout lors de l'éclosion et permettra la sortie de la larve qu'il contient. La femelle *Trichuris* peut pondre jusqu'à 30 000 œufs par jours qui sont directement émis non-embryonnés dans le bol fécal de l'hôte humain alors contaminé. Ces œufs passent dans le

milieu extérieur lors de la défécation où ils peuvent rester viables pendant plus de 5 ans sur sol humides à des températures comprises entre -9°C et +52°C. Ils sont toutefois rapidement tués par la dessiccation (Bourrée, 1996). Le sol pollué d'excréments infestés peut donc constituer un important réservoir d'infestation tellurique même en cas d'abandon temporaire ou de faible fréquentation de la zone concernée.

La germination de l'œuf aboutit en 21 jours au stade infestant constitué d'un juvénile filiforme. La maturation de l'œuf doit se faire dans un sol humide et ombragé. Le passage dans le réservoir tellurique est donc une étape nécessaire au maintien du cycle biologique du *Trichocéphale*, raison pour laquelle on le trouve communément étudié dans la littérature parasitologique avec le groupe dit des géo-helminthes ou *Soil-Transmitted Helminths* (STH) (Jourdan *et al.*, 2017).

Les hôtes humains s'infestent par l'ingestion involontaire d'œufs embryonnés par le biais d'aliments comme des crudités, ou d'eau de boisson pollués de matières fécales contaminées. Les contacts directs main-bouche, la coprophagie et la géophagie infantiles ainsi que les mouches sont également impliquées dans la transmission. Les sucs digestifs de l'hôte participent à la dissolution des bouchons polaires muqueux des œufs ingérés dont la larve s'échappe afin de pénétrer les villosités de l'intestin grêle pendant 8 jours avant de migrer vers le caecum et de muer en sa forme adulte au bout d'un mois. Les vers adultes enchâssent leur extrémité antérieure dans la muqueuse intestinale dont ils se nourrissent du contenu cellulaire et du sang. Cette hématophagie n'est cependant que faiblement en cause dans les syndromes d'anémie associés à un fort portage parasitaire (Roberts et Janovy, 2008). La rencontre, la copulation et enfin la production d'œufs dans les selles de l'hôte ainsi infesté peuvent intervenir 2 mois après l'ingestion des œufs embryonnés (Bourrée, 1996).

Epidémiologie et pathologie

La trichocéphalose est une parasitose extrêmement ubiquiste. On ne rapportait pas moins de 600 000 cas à l'échelle mondiale dans les années 90, essentiellement dans les zones chaudes et humides, en zone rurale et insalubre (Bourrée, 1996), mais des estimations plus récentes portent ce chiffre à 795 millions (Roberts et Janovy, 2008). Chez l'enfant, la prévalence peut atteindre 90 % dans certains villages, avec un *sex-ratio* équivalent (Bourrée, 1996). La prévalence dans certaines zones des USA peut de nos jours atteindre 20 à 25 %, essentiellement chez les jeunes enfants. À l'échelle de ce pays, la prévalence de la trichocéphalose atteint 1,2 % de la population (Roberts et Janovy, 2008). Les conditions nécessaires au maintien du cycle biologique du trichocéphale sont sensiblement similaires à celles de l'ascaris, et ces deux parasitoses sont donc souvent rencontrées circulant dans une même zone et infestant un même individu. Cependant, les œufs du *Trichocéphale* sont à la fois plus sensibles à la dessiccation et à l'exposition aux rayonnements ultra-violets que ceux de l'*Ascaris*, ce qui explique probablement la plus grande ubiquité de ce dernier dont les œufs restent plus facilement viables dans le réservoir tellurique.

La plupart des infestations au *Trichocéphale* chez les humains sont asymptomatiques, un portage parasitaire de moins de 100 vers adultes ne causant pas de signes cliniques. L'infestation modérée peut provoquer des retards cognitifs chez l'enfant ainsi qu'un hippocratisme digital observé aux mains et/ou aux pieds (l'hippocratisme digital est caractérisé par l'épaississement anormal de l'extrémité des doigts, dits en « baguettes de tambour »). Une infestation importante impliquant une forte charge parasitaire, de l'ordre de 200 à 1000 vers adultes, peut conduire à des conséquences graves voire provoquer la mort,

notamment chez le jeune enfant. Une telle situation implique le plus souvent dysenterie, anémie, retard de croissance physique et cognitive, prolapsus rectal ainsi qu'hippocratisme digital (Roberts et Janovy, 2008). L'inflammation importante de la muqueuse intestinale provoquée par l'activité hématophage des nombreux vers adultes qui y sont alors enchâssés est à l'origine de douleurs abdominales, de diarrhées hémorragiques et est favorable à la co-infection par d'autres agents pathogènes intestinaux comme les salmonelles ou les shigelles (Bourrée, 1996). Les lésions provoquées par les vers adultes à la muqueuse intestinale, plus que leur hématophagie en tant que telle, sont à l'origine des anémies associées à de fortes charges parasitaires (Roberts et Janovy, 2008).

Plus de 60 espèces du genre *Trichuris* sont par ailleurs connues chez de nombreux mammifères sauvages et domestiques. *T. ovis* ainsi que *T. suis* sont les deux principales espèces infestant les animaux domestiques, respectivement les bovins et les suidés. Après examen coprologique ou paléoparasitologique sous microscope, seule la taille des œufs permet éventuellement de distinguer les différentes espèces de ce genre sans en connaître l'origine biologique exacte. Le chevauchement des dimensions des espèces infestant les humains (*T. trichiura*) et les suidés (*T. suis*) est cependant trop important pour permettre un diagnostic assuré lorsque le contexte de prélèvement des échantillons est inconnu ou peut aussi bien avoir été souillé de déjections humaines que porcines. A condition de disposer d'un très grand jeu de données, il est cependant possible de discriminer sur critères morphométriques deux groupes distincts de *Trichuris* au sein d'un même assemblage, et ce en dépit d'un chevauchement certain des groupes éventuellement reconnus (Dufour, 2015). Le contexte, mais aussi les espèces parasites observées simultanément peut permettre d'orienter le diagnostic, comme ce fut le cas dans l'étude de la tourbière d'Asi Gonia (Roche *et al.*, 2020a), où des œufs de Trichocéphales ont été observés en présence d'autres taxons non humains, et notamment d'Acanthocéphales, parasites typiques des suidés domestiques et sauvages. Enfin, le diagnostic moléculaire basé sur le ciblage de séquences ADN peut permettre une discrimination spécifique, même lorsque l'origine biologique des échantillons est incertaine.

Capillaria spp.

Cycle biologique

Les vers du genre *Capillaria* qui appartiennent à la famille des *Capillariidae* sont extrêmement diversifiés en termes d'espèces hôtes et *a fortiori* d'organes et de tissus cibles (poumon, foie, intestin...). Les vers adultes sont très semblables à ceux du genre *Trichuris*, à la différence notable que la transition entre leur extrémité antérieure effilée et leur extrémité postérieure épaisse est plus graduelle (Roberts et Janovy, 2008).

L'espèce parasitant le foie de l'hôte humain, *C. hepatica*, peut-être distinguée sur critères morphométriques de ses œufs sous microscope après examen coprologique. Cependant, aucun œuf appartenant à cette espèce n'a été observé dans cette thèse, contrairement à deux morphotypes appartenant sans aucun doute possible au genre *Capillaria*, mais dont l'espèce n'est pas déterminable avec certitude. En effet, plus de 300 espèces de *Capillaridés* ont été décrites à travers le monde, infestant une grande diversité d'hôtes incluant poissons, amphibiens et reptiles, ainsi qu'oiseaux et mammifères.

Le contexte d'observation des œufs à ornementation striée a permis de proposer qu'il pouvait s'agir de l'espèce *C. bovis* (syn. *C. brevipes*). Cela ne peut pas être formellement démontré

sur la base des analyses conduites à ce jour, mais le cycle de ce parasite est ici rapidement présenté afin d'illustrer la biologie des parasites du genre *Capillaria*. Les vers adultes sont de forme filaire et relativement fins, les mâles mesurant de 8 à 9 mm de long et les femelles pouvant atteindre 12 mm. Les œufs produits par la femelle peuvent être rapprochés des œufs du genre *Trichuris* notamment par la présence de bouchons polaires muqueux, mais s'en distinguent nettement par certains caractères distinctifs : chez les capillaridés, les œufs sont systématiquement ornementés, et cette ornementation peut varier selon les espèces sans néanmoins être un caractère suffisant de détermination spécifique. Chez *C. bovis*, l'ornementation présente de légères stries qui tendent à s'orienter dans la grande longueur de l'œuf (on parle aussi d'ornementation de type réticulée, Justine et Ferté, 1989). Les œufs sont la plupart du temps légèrement asymétriques contrairement aux œufs du genre *Trichuris*, et leur coque sur le contour de l'ouverture du bouchon présente un sillon annulaire distinctif. Ces œufs ont une dimension généralement comprise entre 45 et 50 µm de long pour 22 à 25 µm de large. *C. bovis* est un nématode ubiquiste infestant le bétail, le mouton et la chèvre (Taylor *et al.*, 2016), ainsi que de nombreuses espèces de ruminants sauvages (Justine et Ferté, 1989). Son cycle direct passe par l'ingestion d'œufs infestant par un nouvel hôte intermédiaire. Selon les espèces hôtes, des vers adultes ont pu être observés préférentiellement à différents niveaux de l'intestin grêle : le duodenum, le jujenum ou l'ilium, ainsi que l'abomasum de certains ruminants (Justine et Ferté, 1989).

Epidémiologie et pathologie

C. bovis est très ubiquiste et ne semble pas avoir de conséquences pathologiques graves ni de signes cliniques associés (Taylor *et al.*, 2016).

Enterobius vermicularis

Cycle Biologique

L'espèce *E. vermicularis* (ou oxyure), appartient à la superfamille des *Oxyuroidea* qui comporte des espèces parasitant communément les mammifères, oiseaux, reptiles et amphibiens, mais rarement les poissons. Ce spectre d'hôte inclut nombre d'animaux domestiques, à l'exception notable du chien et du chat. Les insectes sont également parasités par les oxyures de la superfamille des *Thelastomatoidea* (Roberts et Janovy, 2008).

E. vermicularis (probable syn. *E. gregorii*) est l'espèce infestant spécifiquement les humains. Les femelles adultes de cette espèce mesurent 8 à 13 mm de long alors que les mâles mesurent 1 à 4 mm. Les spécimens adultes ont une extrémité postérieure particulièrement effilée, et fortement courbée ventralement chez les mâles. Les deux utérus de la femelle peuvent contenir des milliers d'œufs. Ceux-ci sont de forme allongée à ovale, asymétriques, et mesurent de 50 µm à 60 µm par 20 µm à 30µm. Leur coque est incolore, fine, et ne possède aucune ouverture prédéfinie. Les vers adultes se déplacent dans le tractus gastro-intestinal, de l'estomac à l'anus mais sont communément retrouvés agglomérés en région iléo-caecale. Ils se nourrissent probablement des cellules épithéliales de la muqueuse intestinale à laquelle ils s'attachent ainsi que de bactéries. Après l'accouplement, les mâles meurent et les femelles migrent dans la lumière intestinale jusqu'à l'anus de leur hôte qu'elles franchissent parfois. Elles laissent alors derrière elles une trainée d'œufs (de 4600 à 16000) et meurent à leur tour. Les œufs sensibles à la dessiccation meurent en une journée mais contiennent une larve partiellement développée lors de l'oviposition et deviennent infestant en 6 heures à température corporelle. Dans des conditions favorables d'hygrométrie et de

température, les œufs peuvent rester viables durant une semaine. Le passage dans le milieu extérieur n'est pas nécessaire à la poursuite du cycle biologique de l'Oxyure, contrairement aux géo-helminthiases. Aussi, les œufs extrêmement légers et volatiles peuvent être dispersés par les mouvements d'air et avalés après avoir été aspirés par le nez ou par la bouche. Ils éclosent dans le duodénum d'un nouvel ou du même hôte, passent par deux mues en migrant vers la région iléo-caecale, et deviennent matures pour la reproduction. Associé à un manque d'hygiène corporelle, les œufs peuvent également éclore directement sur la marge péri-anale de l'hôte sans dispersion préalable. Les juvéniles passent alors l'anus en direction de l'intestin. Le cycle biologique de l'oxyure permet donc l'auto infection.

Épidémiologie et pathologie

L'oxyurose est une parasitose encore relativement fréquente en Occident. Elle touche préférentiellement les jeunes enfants, les lieux de confinement collectif étant particulièrement propices à la dissémination du vers, ici associé à une mauvaise maîtrise de l'hygiène corporelle. Il a été possible d'observer des œufs d'*E. vermicularis* dans la poussière de salles de classes et de cantines scolaires. Ainsi, 20 à 30 % des enfants en école primaire aux USA seraient infestés par l'Oxyure, alors qu'en Estonie, une prévalence de 24 % a été observée parmi 954 enfants d'école maternelle dans le sud Est du pays. Dans les pièces fermées où beaucoup d'individus infestés peuvent circuler communément, les œufs de l'Oxyure peuvent s'accumuler dans les tapis, moquettes et rideaux. Les vecteurs les plus communs d'infestation semblent cependant être les literies, vêtements et serviettes de bain souillées, mais surtout le contact des mains à la bouche.

Environ un tiers des oxyuroses reste asymptomatique alors que la majorité des autres cas présente des désagréments généralement bénins. Comme c'est souvent le cas des helminthiases, une forte charge parasitaire peut cependant aggraver notablement les conséquences de l'infestation. Ces conséquences peuvent être dues aux lésions consécutives d'un trop grand nombre de vers adultes sur la muqueuse intestinale, ou d'un trop grand nombre d'œufs sur la marge anale. Dans le premier cas, l'inflammation provoquée favorise les infections bactériennes secondaires, tandis que la pénétration accidentelle de vers dans la muqueuse peut conduire à une issue fatale. Le désagrément causé par l'activité d'oviposition nocturne des femelles peut conduire l'hôte endormi à un grattage réflexe de la zone, conduisant à des saignements, propices également à des infections bactériennes secondaires, et à plus de démangeaisons. Les vers peuvent également migrer jusqu'à la vulve où ils provoquent une légère irritation, voire jusqu'à l'utérus et à l'oviducte où ils peuvent aboutir à la formation de granulomes (Roberts et Janovy, 2008).

Les œufs de type Strongyle

Les œufs de type Strongyle (ou Strongle) observés en paléoparasitologie peuvent appartenir à différentes espèces de nématodes. Le manque de spécificité de leurs caractères morphométriques interdit généralement toute détermination taxonomique précise en l'absence de connaissances fiables sur leur origine biologique. En dépit d'un nom unique (« type Strongle »), ces œufs peuvent provenir de différentes familles taxonomiques. Il a été suggéré que les œufs observés au cours de cette thèse puissent provenir pour partie de la famille des *Strongylidae*, et pour partie de la famille des *Trichostrongylidae*. Ces deux familles sont rapidement décrites *infra*.

La famille des Strongylidae

Cette famille de nématodes comprend parmi les plus petits parasites humains, dont *Strongyloides stercoralis* est le plus répandu. *S. stercoralis* infeste également les primates non-humains et d'autres mammifères dont le chien et le chat. Certaines espèces sont hôte-spécifiques telles que *S. ratti* chez le rat, *S. ransomi* chez le porc ou *S. papillosus* chez le mouton. On le trouve également chez les oiseaux, reptiles et amphibiens (Roberts et Janovy, 2008).

Cycle biologique

Les vers du genre *Strongyloides* sp. sont notamment caractérisés par leur capacité à accomplir un cycle biologique libre ou parasite. Lors de leur cycle parasite, la génération semble uniquement être le fait de la parthénogénèse des femelles. Celles-ci mesurent alors environ 2 mm de long pour 0,04 mm de large à l'état adulte et ne contiennent que quelques œufs à la fois (Bogitsh *et al.*, 2012).

Dans leur cycle libre, les vers de l'espèce *S. stercoralis* s'enfouissent dans un sol humide en climat chaud et où la copulation a lieu entre des vers mâles et femelles. Les gamètes mâles ne font cependant qu'activer le développement de l'ovocyte par parthénogénèse sans contribuer au matériel génétique de l'embryon. A l'oviposition, les œufs contiennent un juvénile rhabditiforme qui n'aura besoin que de quelques heures pour finir son développement. L'éclosion s'opère dans le sol où les juvéniles se nourrissent de débris organiques en passant à travers quatre mues jusqu'à l'état adulte où la copulation pourra avoir lieu. Ce cycle de vie libre peut perdurer sans interruption si les conditions environnementales sont favorables. Si elles ne le sont pas, les juvéniles ne passeront qu'à travers deux mues successives jusqu'à un état filariforme infestant dans l'attente d'un contact avec un hôte potentiel (Bogitsh *et al.*, 2012).

Lors d'un contact avec un hôte (humain dans le cas de *S. stercoralis*), le vers filariforme s'enfouit à travers la peau de cet hôte et atteint le poumon par voie lymphatique ou sanguine. Traversant les alvéoles pulmonaires après une troisième mue, il remonte les voies aériennes jusqu'à la trachée où il est dégluti par toux réflexe, avant de passer le système digestif jusqu'à l'intestin grêle où il subit une dernière mue donnant une femelle adulte parthénogénétique. Celle-ci s'enfouit dans la muqueuse intestinale où elle pond des œufs embryonnés 25 à 30 jours après l'infection (Bogitsh *et al.*, 2012). Quelques douzaines d'œufs sont pondus par jour et par femelle (Roberts et Janovy, 2008). Ces œufs mesurant environ 54 par 32 µm sont caractérisés par une coque fine, lisse et incolore, et laissent éclore un juvénile rhabditiforme sur la muqueuse mesurant de 300 à 380 µm de long (Roberts et Janovy, 2008 ; Bogitsh *et al.*, 2012). Ce juvénile se nourrit lors de son transit dans l'intestin avec le bol fécal jusqu'à être expulsé dans le milieu extérieur lors de la défécation (Bogitsh *et al.*, 2012). Les œufs, contenant un amas de blastomères ou un embryon peuvent se rencontrer dans les selles diarrhéiques ou, plus rarement, dans les selles normales (Datry et Carrière, 1996). Si les conditions sont favorables, les juvéniles retrouveront leur cycle de vie libre.

Il est possible que les juvéniles rhabditiformes migrant dans le tube digestif passent rapidement par deux mues aboutissant à un juvénile filariforme pénétrant à son tour la muqueuse intestinale ou péri anale. Gagnant alors le système circulatoire, la larve entre immédiatement dans un cycle parasitaire sans passer par le milieu extérieur. Il s'agit d'un cycle d'auto infestation (Bogitsh *et al.*, 2012). Ce cycle endogène peut expliquer le maintien

à très long terme d'une infestation à *S. stercoralis* après un voyage dans une zone d'endémie (Datry et Carrière, 1996).

Épidémiologie et pathologie

L'infestation humaine survient surtout par contact des pieds avec un sol souillé de matières fécales, et plus rarement par de l'eau contaminée. Le nombre de cas de strongyloïdose (ou anguillulose) est estimé entre 100 et 200 millions à travers le monde, dont 21 millions en Asie, 8,6 millions en Afrique et 4 millions en Amérique tropicale. Le cycle libre du ver est sensiblement favorisé par les climats chauds et humides où les conditions sanitaires sont mauvaises (Bogitsh *et al.*, 2012). Plus sporadiquement, des infections ont été rapportées en régions tempérées et froides. Certains foyers d'infection sont connus en Europe méditerranéenne, notamment en Italie et dans la péninsule Ibérique (Datry et Carrière, 1996). Le chien et le chat peuvent être des réservoirs du parasite, et l'infestation humaine peut alors être considérée comme zoonosique (Bogitsh *et al.*, 2012).

La strongyloïdose peut se manifester par trois phases pathologiques : 1/ La phase cutanée qui voit l'inflammation et la démangeaison de la zone de pénétration transcutanée du juvénile filariforme voire l'infection bactérienne secondaire ; 2/ La phase pulmonaire lors de la migration larvaire entraînant une réaction cellulaire massive, toux, sensation de brûlure et signes de broncho-pneumonie ; 3/ La phase intestinale qui voit l'installation des larves dans la muqueuse intestinale provoquant brûlure et douleur abdominale et dont l'infestation modérée à lourde peut provoquer nausée, vomissement et diarrhée. L'infection prolongée conduit à la dysenterie chronique et la perte de poids, et dans les cas d'infection très lourde, à une issue fatale attribuable à l'invasion massive du tissu intestinal par les juvéniles filariformes et à l'infection bactérienne secondaire due à l'ulcération de la muqueuse (Bogitsh *et al.*, 2012).

La famille des Trichostrongylidae

Un très grand nombre de genres et d'espèces appartiennent à la famille des *Trichostrongylidés*. Ce sont des parasites de l'intestin grêle dans toutes les classes de vertébrés à l'origine d'importantes pertes économiques chez les animaux domestiques et particulièrement les ruminants. Ils sont par ailleurs sporadiquement observés chez les humains comme vraies infections (Roberts et Janovy, 2008).

Cycle biologique

Les vers adultes sont généralement petits, avec un dimorphisme sexuel prononcé en faveur des femelles. Le cycle biologique des différentes espèces est relativement similaire et ne nécessite pas d'hôte intermédiaire. Les œufs, qui passent dans le milieu extérieur par la défécation, éclosent sur le sol ou dans l'eau et après 2 mues se développent en juvéniles infestants en quelques jours. La durée de cette phase tellurique peut varier selon les conditions climatiques et l'espèce considérée (Nozais, 1996). L'infection peut être transcutanée mais elle se déroule la plupart du temps par ingestion involontaire d'eau ou de végétaux souillés de juvéniles. De très grandes quantités de larves peuvent effectivement s'accumuler sur les prairies pâturées, causant des infections importantes voire fatales aux animaux ruminants (Roberts et Janovy, 2008). Les larves mobiles et mues d'un géotropisme négatif se rassemblent dans les zones humides au sommet des herbes, leur longévité étant alors plus importante au printemps et en automne (Nozais, 1996). La proximité des cycles

biologiques de différentes espèces conduit souvent à leur cooccurrence dans un même milieu et sur une même pâture, aboutissant à l'infection d'un même hôte par plusieurs espèces de Trichostrongles. Les effets pathologiques de ce polyparasitisme se cumulent, aggravant la maladie et les pertes économiques dans les cheptels infestés (Roberts et Janovy, 2008).

Après ingestion de fruits ou de légumes souillés des excréments d'herbivores domestiques, le juvénile infestant pénètre la muqueuse de l'intestin grêle où il termine sa mue avant de pondre dans la lumière intestinale. La période qui précède le début de la ponte peut durer de 2 à 4 semaines selon l'espèce considérée, et le statut de primo infection ou de réinfection de l'hôte qui peut avoir développé une certaine immunité au parasite (en cas de réinfections fréquentes par exemple). Diverses espèces vivent au contact ou enfoncées dans la muqueuse intestinale, et sont pour certaines hématophages comme *Ostertagia ostertagi* ou *Trichostrongylus axei*, ou pour d'autres se nourrissent du chyme intestinal (Nozais, 1996). Chez les humains, les Trichostrongles peuvent s'établir au niveau du duodénum ou en amont du jéjunum, et parfois dans la vésicule biliaire (Nozais, 1996).

Les œufs émis par les Trichostrongles sont de grande taille, comparés à ceux de la famille des *Strongylidae* vus précédemment. L'absence de chevauchement entre les tailles de ces œufs permet de dire à minima que les taxons observés se répartissent au sein de ces deux familles. Au sein de la famille des *Trichostrongylidae* en revanche, le chevauchement de formes et de tailles est important, et il n'est pas possible de les distinguer sur un simple examen paléoparasitologique ou de coprologie médicale. Les œufs du genre *Trichostrongylus* sp. ont ainsi une coque incolore, lisse et fine, et sont de forme asymétrique avec un pôle bombé et le pôle opposé plus effilé, ainsi qu'un grand côté aplati et l'autre plus arrondi. Au moment de l'émission dans les matières fécales, il contient de 16 à 32 blastomères. Les œufs de *T. axei* mesurent de 70 à 108 µm de long pour 30 à 48 µm de large, et les œufs de *T. vitrinus* mesurent de 85 à 125 µm de long pour 37 à 55 µm de large. Les œufs du genre *Ostertagia* sp. sont quant à eux symétriques aux parois légèrement bombées. Ceux de l'espèce *O. ostertagi* mesurent 74 à 90 µm de long pour 38 à 44 µm de large. Les parois des œufs du genre *Haemonchus* sont quant à elles fortement bombées. Ceux de l'espèce *H. contortus* mesurent de 62 à 95 µm de long pour 36 à 50 µm de large. Les œufs d'*Ostertagia* et d'*Haemonchus* comportent à leur émission un grand nombre de blastomères remplissant la totalité de leur volume en un amas cellulaire (Nozais, 1996). Ces exemples illustrent la difficulté du diagnostic paléoparasitologique en l'absence de certitudes sur l'origine biologique des échantillons et avec l'impossibilité de mettre en culture les juvéniles récoltés afin de baser le diagnostic sur la morphologie de leurs différents stades de développement.

Épidémiologie et pathologie

Les trichostrongyloses sont des parasitoses cosmopolites et les cas humains en particulier ont été rencontrés sur tous les continents, notamment en Tunisie, Égypte et Turquie en ce qui concerne le pourtour méditerranéen (Nozais, 1996), mais des cas ont été rapportés dans presque tous les pays du monde. Ainsi, 9 espèces ont été observées chez l'humain rien qu'en Iran, et les prévalences rapportées peuvent fortement varier, allant jusqu'à 69 % et 70 % dans certaines localités d'Iran et d'Égypte. Ces espèces, comme *O. ostertagi* peuvent être communes chez le bétail et le mouton, alors que d'autres comme *T. axei* touchent un très large spectre de mammifères (Roberts et Janovy, 2008).

Les conséquences pathologiques des trichostrongyloses sont similaires chez les humains et les autres animaux : les dommages traumatiques dus au fuissement des larves juvéniles dans la muqueuse intestinale et à l'activité hématophage des vers adultes ; l'empoisonnement par les rejets métaboliques des vers ; de possibles déficiences thyroïdiennes ; hémorragie ; émaciation et anémie en cas d'infection sévère (Roberts et Janovy, 2008).

Chapitre 2 : Les Plathelminthes

Sites	Méthode	Trématodes	
		<i>Fasciola</i> sp.	<i>Dicrocoelium dendriticum</i>
Délos*	M	Oui	Non
	ADNa	ND	Non
Florence*	M	Non	Non
	ADNa	Non	Oui
Asi Gonia*	M	Non	Non
	ADNa	ND	ND
Mare Stagno	M	Non	Non
	ADNa	ND	ND
La Biagiola	M	Non	Non
	ADNa	ND	ND
Kardamaina	M	Non	Non
	ADNa	ND	ND
Labraunda	M	Non	Non
	ADNa	ND	ND
Utique	M	Non	Non
	ADNa	ND	ND
Pollentia	M	Non	Non
	ADNa	ND	ND
Baelo Claudia	M	Non	Non
	ADNa	ND	ND

Tableau 5 Détection Trématodes observés au cours de ce travail par la microscopie (notée M) et la paléogénétique (notée ADNa) sur les dix sites archéologiques du corpus ayant livré des résultats. Les sites marqués d'un astérisque font l'objet d'un chapitre qui leur est consacré dans la partie IV du manuscrit.

Phylogénie et origine des Trématodes

Les Trématodes sont une classe du phylum des Plathelminthes. Certains Plathelminthes *Turbellariés* peuvent être parasites, comme les *Fecampiidae*, les *Notentiridae*, les *Genostomatidae* et les *Urastomatidae*, mais ceux-ci regroupent globalement des espèces libres, voire commensales. En revanche, la super classe de Plathelminthes des *Neodermata*, à laquelle appartiennent les Trématodes (avec les Monogènes et les Cestodes), constitue un clade monophylétique composé quasi uniquement de vers parasites obligatoires des vertébrés à l'état adulte. (Littlewood, 2006) Les Trématodes sont généralement divisés en deux sous-classes, dont celle des Digènes à laquelle les taxons décrits dans ce manuscrit appartiennent. Dès lors, « les Trématodes » auxquels il sera souvent fait référence renverront spécifiquement aux taxons de cette sous-classe.

L'origine évolutive des vers plats parasites n'est que de peu éclairée par leur registre fossile. Celui-ci a cependant livré un certain nombre de pièces de différentes époques, dont des œufs de turbellariés quaternaires (Binford, 1982), ou un spécimen de *Rhabdocoela* éocène préservé

dans de l'ambre (Poinar, 2003). Plus récemment, Dentzien-Dias et collègues (2013) ont documenté 93 œufs de cestodes préservés dans un coprolithe de squalé provenant de la formation du Rio do Rasto dans le bassin de Parana au Brésil et daté du Permien moyen à tardif.

La monophylie des Néodermates autorise à penser que l'émergence de ce clade de spécialistes du parasitisme a été le fruit d'un unique événement de spéciation. Par ailleurs et en dépit des limites d'un raisonnement basé uniquement sur la co-phylogénie hôtes-parasites, le recours au registre fossile des hôtes des Néodermates (plutôt qu'à celui des parasites eux-mêmes) peut être d'une certaine utilité. En effet, les Néodermates se trouvent chez tous les Craniates, à l'exception des Myxines et des Petromyzontides (les Lamproies), et il est donc autorisé de penser que les Néodermates ont pu diverger des autres Plathelminthes en devenant des parasites des vertébrés au moment où les Chondrichthyens et les Osteichthyens ont eux-mêmes divergé, ou peu avant. Ces divergences chez les vertébrés sont, elles, connues et datables dans le registre géologique. Il est ainsi possible de penser que les Néodermates et probablement certaines de leurs classes, dont les Digènes, ont divergé avec les premiers Gnathostomes à la jonction Cambrien-Ordovicien, c'est à dire il y a au moins 540-480 millions d'années, mais n'étaient pas encore apparus chez les premiers vertébrés (dont les Lamproies), il y a 560-540 millions d'années (Littlewood, 2006).

Biologie des Trématodes

La classe des Trématodes regroupe des vers aplatis dorso-ventralement souvent décrits comme ayant une forme de feuille.

Ces vers sont des bilatériens acœlomates. Leur système digestif est incomplet, contrairement à celui des Nématodes. En effet, le cœcum des Trématodes est un cul de sac : leur système digestif s'ouvre par une bouche à l'extrémité antérieure de l'animal et se poursuit par un pharynx, un œsophage et un cœcum souvent bifide. Mais ce dernier est aveugle, aussi la bouche sert-elle à la fois pour l'ingestion et l'excrétion. Les systèmes circulatoires et respiratoires sont également absents, et l'espace compris entre les organes et la paroi corporelle est occupé de tissus conjonctifs et musculaires, formant le parenchyme dont les espaces intercellulaires sont baignés de fluide.

L'organisation anatomique des Trématodes, au moins à l'état adulte, est globalement la même à travers toutes les espèces de cette classe. Leur paroi extérieure est formée par un tégument syncytial métaboliquement actif dont l'obtention systématique au cours de la divergence des Néodermates a probablement à voir avec leur spécialisation parasitaire. En effet, certaines des molécules présentes à leur surface sont par exemple des inhibiteurs d'enzymes digestives.

La plupart des Trématodes, à l'exception des Schistosomes dont il sera souvent question dans ce manuscrit, sont des espèces hermaphrodites. Les individus adultes portent donc à la fois des organes reproducteurs mâles et femelles.

Les organes mâles sont globalement constitués de deux testicules ou plus, situés dans la moitié postérieure du parenchyme et reliés par un canal déférent au cirrus, portion tubulaire de l'organe qui peut être extravertie par le pore génital commun avec le *metraterm* des organes femelle et situé dans la moitié antéro-ventrale de l'individu.

Les organes femelles sont constitués d'un ovaire situé à proximité des testicules et dont la localisation exacte peut varier selon les espèces. L'ovocyte qui y est produit migre ensuite via un oviducte en direction d'une chambre (l'ootype) où sera formée la coque de l'œuf. La spermathèque débouchant également sur l'oviducte permet la fertilisation et la division cellulaire de l'œuf au moment de son passage à proximité. L'ootype dans lequel se trouve l'œuf ainsi fertilisé est tapissé de glandes unicellulaires de Mehlis, ou glandes coquillères, sécrétant le patron de la coque de l'œuf alors en cours de fabrication. Par la suite, les glandes vitellines, débouchant elles aussi sur l'ootype y libèrent une couche vitelline durcissant sur les patrons d'œufs préalablement déposés par les glandes de Mehlis. Cette induration est permise par la liaison enzymatique des protéines de la couche vitelline. L'oxydation des résidus de tyrosine de ces protéines aboutit à la coloration brune des œufs de certaines espèces, et à leur aspect tanné. La paroi utérine est également responsable chez certaines espèces du dépôt d'une couche supplémentaire utérine dans la constitution de la coque.

L'œuf finalement produit est ovoïde et contient l'embryon et une réserve vitelline. Ces œufs sont typiquement operculés à une extrémité, facilitant ainsi l'éclosion de la larve au moment propice. Chez les Schistosomes toutefois, cet opercule est absent, et l'œuf est fendu longitudinalement par la larve forçant sur sa paroi au moment de l'éclosion.

Après avoir migré dans l'utérus, ces œufs seront expulsés via le *metraterrm*, portion distale et musculieuse de l'utérus facilitant l'éjection des œufs par le pore génital commun. Rejoignant ensuite passivement le système urinaire ou digestif (selon les espèces) de leur hôte vertébré, ces œufs pourront gagner le milieu extérieur lors de la miction ou de la défécation de celui-ci. Les œufs des digènes sont généralement non embryonnés lors de leur émission dans le milieu extérieur, et nécessitent un développement embryonnaire préalable avant de pouvoir éclore.

A fortiori, ces œufs tannés et préservés dans le sol, des paléofécès, coprolithes ou tissus animaux, pourront être observés en paléoparasitologie et faire l'objet de déterminations génériques fondées sur des critères morphométriques variables.

Fasciola sp.

Cycle biologique

Fasciola sp. est communément appelé la grande douve du foie, ou la douve du mouton, dont elle est un pathogène important. Elle peut cependant être transmise aux humains dont elle est le plus gros digène connu, pouvant mesurer 30 mm de long pour 13 mm de large. Il s'agit d'un parasite hétéroxène dont le premier hôte intermédiaire est un mollusque aquatique, suivi d'une plante hygrophile alors utilisée comme support, avant d'investir un mammifère herbivore en guise d'hôte définitif.

Les vers adultes résident dans les canaux et tissus hépatiques et la vésicule biliaire de leur hôte. Les œufs de couleur brune, de forme ovoïde, operculés et mesurant 130-150 µm x 63-90 µm, sont expulsés par les adultes avant que la larve miracidium qu'ils contiennent ne soit totalement développée. Ils passent dans le tube digestif de l'hôte via le canal biliaire et finissent dans le milieu extérieur lors de la défécation. Il est essentiel pour le parasite de trouver passivement un milieu aquatique pour que son cycle de développement puisse se poursuivre. Le cas échéant, 4 à 15 jours passés dans une eau à environ 22°C permettront à la larve miracidium de poursuivre son développement et d'éclore de son œuf en ouvrant son opercule. Munie de cellules phototaxiques, cette larve nageuse peut s'orienter à la recherche

de son premier hôte intermédiaire, un mollusque aquatique du genre *Lymnea*, *Succinea*, *Fossaria* ou *Practicotella*, faute de quoi elle meurt en quelques heures. À l'intérieur de ce premier hôte intermédiaire, la larve se métamorphose en sporocyste puis en rédies mères qui elles-mêmes produisent des rédies filles. C'est la phase de multiplication asexuée du parasite. Les rédies filles produisent des larves cercaires qui migrent à travers les tissus de l'hôte pour regagner le milieu extérieur où elles pourront nager librement à l'aide de leur flagelle unique. Une fois fixée à une plante immergée, comme du cresson, la larve cercaire perd son flagelle et s'enkyste en métacercaire. Le kyste est ensuite involontairement ingéré par un animal herbivore paissant dans un champ inondé ou en bordure de canal. Les humains s'infectent en consommant des légumes non lavés. Les métacercaires perdent leur kyste dans le duodénum de leur hôte définitif ainsi infesté, pénètrent activement la paroi intestinale puis la capsule fibreuse du foie, la capsule de Glisson. Les larves consomment ensuite le tissu hépatique en migrant à travers le parenchyme du foie. Parvenues aux canaux hépatiques, elles atteignent la maturité sexuelle en l'espace de 12 semaines. Les vers adultes hermaphrodites sont alors prêts pour leur phase de reproduction sexuée et peuvent vivre jusqu'à 11 ans. Les organes femelles des vers peuvent produire jusqu'à 3000 œufs par jour qui, à leur tour seront disséminés dans le milieu extérieur.

Épidémiologie et pathologie

La fasciolose, ou distomatose hépatique, est une parasitose cosmopolite et connaît dans certaines zones une avancée importante, notamment sur le continent américain. Les zones d'élevage de mouton et de bétail sont celles où sont détectées le plus grand nombre d'infections humaines. Du fait du cycle aquatique de la douve, les pâtures irriguées pourraient localement favoriser la transmission du parasite (Sanchez-Andrade *et al.*, 2002). Le fardeau de la parasitose est cependant essentiellement agronomique et économique, l'action de spoliation des parasites nuisant directement à la croissance, à la production de lait, de laine et de viande des animaux parasités.

La distomatose hépatique à *F. hepatica* peut également toucher les humains, chez qui elle est caractérisée par la lyse du tissu et des canaux hépatiques dans sa phase d'état. L'activité traumatique des vers, d'abord larvaires puis adultes, dans le parenchyme du foie, provoque hémorragie, atrophie des canaux sanguins et peut à terme conduire à une issue fatale. Durant la phase de migration larvaire, certaines larves peuvent s'égarer dans la cavité corporelle de l'hôte et provoquer des réactions inflammatoires en s'enkystant dans des tissus ectopiques. La symptomatologie de la distomatose à *F. hepatica* chez les humains implique céphalées, mal de dos, tremblements et fièvre. Le gonflement du foie en état de cirrhose couplé aux diarrhées et à l'anémie sont les signes d'une infection avancée.

Paramphistomum sp.

Cycle biologique

Les vers du genre *Paramphistomum* appartiennent à la famille des *Paramphistomidae* que l'on retrouve essentiellement chez les herbivores ruminants. Un certain nombre d'espèces parasitent ainsi le mouton, la chèvre, le bétail, les cervidés, mais également le buffle d'eau ou l'éléphant (Roberts et Janovy, 2008).

Les espèces les plus communément détectées, comme *Paramphistomum cervi*, vivent dans le rumen et le reticulum des animaux herbivores, notamment domestiques. Leur distribution est

relativement ubiquiste à travers le monde. Les spécimens adultes dits en « forme de poire » sont effectivement coniques et mesurent 6 à 13 mm de long pour 3 à 5 mm de large, de couleur légèrement rouge à rosée. Contrairement aux autres douves, leur ventouse ventrale est située dans l'extrémité postérieure de leur corps, et étant particulièrement volumineuse, participe à leur forme générale de poire (Taylor *et al.*, 2016). Les œufs observables sous microscope sont grossièrement semblables à ceux de *Fasciola* sp., mais des caractères distinctifs permettent de les discriminer sans aucune équivoque possible, à savoir une surface légèrement ornementée de ponctuations, et le bord de l'opercule crénelé (Le Bailly, 2005).

Leur cycle biologique est semblable à celui des douves du foie, *Fasciola hepatica*. Les œufs sont ainsi libérés passivement dans le milieu extérieur, non embryonnés, lors de la défécation de l'hôte. Tombant dans un milieu inondé approprié, le développement des larves *miracidia* est enclenché. Après éclosion grâce à l'ouverture de l'opercule de l'œuf, les larves nageuses pénètrent des mollusques aquatiques dans lesquelles elles se développent en larves cercaires, sporocystes et rédies. Cette phase de leur développement, dans des conditions favorables de température comprise entre 26 et 30°C, dure 4 semaines. Sorties de leur premier hôte intermédiaire, les larves gagnent des plantes aquatiques ou hygrophiles sous les feuilles desquelles elles s'enkystent sous forme de métacercaires. L'ingestion involontaire des kystes par des animaux herbivores conduit à leur dissolution et à la libération des métacercaires dans le duodénum du nouvel hôte ainsi infesté. Les larves immatures s'arriment à la paroi du duodénum à laquelle elles se nourrissent durant 6 semaines. Elles migrent ensuite dans les tissus en direction des estomacs. Arrivées à l'abomasum elles regagnent la lumière et se dirigent vers le rumen au sein des villosités duquel elles se fixent et où elles deviennent matures en 2 à 4 mois (Roberts et Janovy, 2008).

Épidémiologie et pathologie

De distribution mondiale, le développement des *Paramphistomes* est cependant favorisé par les climats océaniques côtiers propices aux précipitations, notamment en période estivale ainsi qu'aux températures douces. La conjonction des températures suffisantes et du maximum de précipitation annuelle tend à faire du milieu du printemps et du début de l'automne les périodes les plus favorables à l'émission de larves cercaires dans l'environnement et à leur développement, et ainsi au cycle de transmission du paramphistome, aboutissant à des périodes de haut risque d'infection (Paz-Silva *et al.*, 2010). En Europe, trois autres espèces de paramphistomes infestent communément le bétail, dont *P. daubneyi* dont la prévalence peut atteindre 30% d'un cheptel. De nos jours, les femelles semblent plus communément infestées que les mâles, ce qui est sans doute expliqué par le package des jeunes mâles en intérieur alors que les jeunes femelles sont élevées rapidement en zone extérieure pâturée (où le cycle biologique des trématodes peut donc avoir lieu) (Roberts et Janovy, 2008).

L'infestation, notamment par *P. cervi*, est tout particulièrement pathogénique et conduit souvent à la mort de l'hôte infesté (Roberts et Janovy, 2008). Les conséquences pathologiques de l'infestation par le paramphistome sont essentiellement dues à l'activité migratoire des formes larvaires qui entraîne la destruction de nombreux tissus. Un fort portage parasitaire peut conduire à la mort de l'hôte du fait de la gravité de l'inflammation provoquée. La digestion est entravée par l'infection qui conduit à la malabsorption des nutriments et à la perte d'appétit, à la diarrhée, l'anémie, l'anorexie et à l'affaiblissement général. L'activité des vers adultes dans le rumen infesté n'est pas en elle-même

dommageable en dehors des cas d'infestation massive dont le nombre important de parasites peut alors endommager la muqueuse. Chez les animaux domestiques, le préjudice, outre la santé de l'animal infesté, porte également sur la déplétion de la production de viande ou de lait à l'origine de pertes économiques substantielles (Paz-Silva *et al.*, 2010).

Dicrocoelium dendriticum

Cycle biologique

Les vers de l'espèce *D. dendriticum* appartiennent à la famille importante des *Dicrocoeliidae*, et qui, comme les *Fasciolidae* et *Opistorchiidae* infeste communément le foie de leur hôte. Les différentes espèces de cette famille peuvent également infester la vésicule biliaire, le pancréas ou l'intestin de l'hôte parasité, qui est toujours un vertébré terrestre ou semi-terrestre. Tous les *Dicrocoelidés* passent par ailleurs par un hôte intermédiaire qui est un mollusque terrestre. Si les hôtes finaux des *Dicrocoelidés* sont assez diversifiés parmi les vertébrés, l'infestation humaine est rare et accidentelle (Roberts et Janovy, 2008).

D. dendriticum, la petite douve du foie, est un parasite souvent rencontré chez le mouton dont il infeste les canaux biliaires, mais également le bétail, la chèvre, les suidés et les cervidés. Le vers adulte mesure 6 à 10 mm de long pour 1,5 à 2,5 mm de large. Contrairement à la forme de feuille de *Fasciola* sp. ou la forme de poire de *Paramphistomum* sp., *D. dendriticum* a une forme allongée dont la plus grande largeur est située approximativement au milieu de son grand axe, alors que cette largeur diminue à chaque extrémité. La ventouse ventrale est ici située à proximité de l'entrée de la cavité orale, et s'en distingue par sa plus grande dimension. L'utérus remplit presque la totalité du volume corporel derrière l'ovaire situé dans le premier tiers antérieur du vers adulte, et dont les œufs produits présentent l'opercule distinctif des plathelminthes et mesurent 36 à 45 µm par 22 à 30 µm (Roberts et Janovy, 2008).

Bien que colonisant les canaux biliaires comme *F. hepatica*, *D. dendriticum* s'est au cours de l'évolution éloigné du cycle biologique aquatique caractéristique des trématodes. En effet, les œufs non embryonnés relâchés dans les selles de l'hôte infesté doivent alors, pour poursuivre leur développement, être passivement ingérés par un mollusque terrestre avant d'éclore. Le spectre d'hôte possible est alors très peu spécifique et peut s'accommoder d'une grande diversité de mollusques. Les œufs ingérés peuvent ainsi éclore dans l'intestin du mollusque infesté et les miracidia dès lors libres pénètrent activement la paroi intestinale et se transforment en sporocystes dans les glandes digestives de l'hôte. Une seconde génération de sporocystes est alors créée qui elle, produira des xiphidiocercariae pour lesquelles il a été proposé que la présence d'un flagelle unique encore bien développé était probablement un vestige de leur origine aquatique récente sur le plan de l'évolution (Roberts et Janovy, 2008). Environ 3 mois après l'infection, les cercaires s'accumulent dans le manteau du mollusque hôte ainsi qu'à sa surface, provoquant une importante sécrétion de mucus épais par le mollusque afin de le protéger de l'irritation produite par la grande quantité de parasites. Les cercaires peuvent ainsi se détacher de leur premier hôte, et survivre dans le mucus laissé derrière son passage en l'absence de milieu aquatique et rencontrer ainsi leur second hôte intermédiaire. Le rôle du second hôte est pris par différentes espèces de fourmis communes présentes dans la région où se déroule le cycle biologique du parasite. Celles-ci se nourrissent du mucus dispersé en abondance par les mollusques infestés ou en nourrissent leurs larves. A cette occasion, elles ingèrent les nombreuses larves du *Dicrocoelium* protégées de

l'environnement terrestre à l'intérieur du mucus, qui vont alors s'enkyster dans l'hémocœle des arthropodes. Parmi les larves ingérées par ce nouvel hôte, l'une d'elle arrive généralement à s'enkyster dans le ganglion nerveux sous-œsophagien conduisant à un phénomène particulièrement impressionnant de manipulation parasitaire : le kyste ainsi formé n'est pas infestant, en revanche, il altère le comportement normal de la fourmi de sorte à la faire grimper au sommet d'un brin d'herbe ou d'une autre plante lorsque la température diminue peu avant la tombée de la nuit. Là, les muscles mandibulaires de la fourmi sont soumis à des spasmes tétaniques la forçant à agripper fermement le support sur lequel elle se trouve, et où elle reste toute la nuit, jusqu'au matin et à ce que l'élévation de la température inhibe la manipulation et que la fourmi retrouve un comportement normal jusqu'au soir suivant. Par cette altération du comportement, le parasite favorise la rencontre avec l'hôte définitif en augmentant le risque que la fourmi infestée soit ingérée involontairement par celui-ci aux heures fraîches de la journée privilégiées par les ruminants pour se nourrir. Ainsi ingérés par un ruminant, les kystes contenus dans la fourmi seront dissouts et libéreront leurs larves dans le duodenum de ce nouvel hôte, et remonteront activement le conduit biliaire jusqu'au foie. Cette dernière phase de migration dure 6 à 7 semaines avant que les vers, devenus matures, commencent à produire de nouveaux œufs (Roberts et Janovy, 2008).

Épidémiologie et pathologie

À nouveau, les conséquences pathologiques de la dicrocoeliose sont semblables à celles de la fasciolose avec de notables exceptions. Ainsi, la migration larvaire au sein de l'hôte définitif n'est pas à l'origine de graves destructions tissulaires. En revanche, les dysfonctions hépatiques et biliaires, l'inflammation des canaux biliaires, la fibrose et l'altération hépatocytaire sont des conséquences classiques de l'infestation par le *Dicrocoelium*. Bien que plusieurs cas de véritables infestations humaines aient été documentés, la découverte fortuite d'œufs de *Dicrocoelium* dans les selles d'un patient est dans l'extrême majorité des cas le signe d'un faux parasitisme : l'ingestion d'organes d'animaux infestés et chargés d'œufs dans les heures ayant précédé l'examen est à l'origine de ce faux parasitisme. Les œufs ingérés, qui ne sont pas infestant, traversent le système digestif et se retrouvent expulsés dans les selles (Roberts et Janovy, 2008). Une véritable infection humaine, bien que rare, doit être provoquée par les stades infestant du parasite, et donc passer par l'ingestion de fourmis.

Chapitre 3 : Les Acanthocéphales

Sites	Méthode	Acanthocéphales
		<i>Macracanthorhynchus</i> sp.
Délos*	M	Non
	ADNa	ND
Florence*	M	Oui
	ADNa	ND
Asi Gonia*	M	Non
	ADNa	ND
Mare Stagno	M	Non
	ADNa	ND
La Biagiola	M	Non
	ADNa	ND
Kardamaina	M	Non
	ADNa	ND
Labraunda	M	Non
	ADNa	ND
Utique	M	Non
	ADNa	ND
Pollentia	M	Non
	ADNa	ND
Baelo Claudia	M	Non
	ADNa	ND

Tableau 6 Détection des Acanthocéphales observés au cours de ce travail par la microscopie (notée M) et la paléogénétique (notée ADNa) sur les dix sites archéologiques du corpus ayant livré des résultats. Les sites marqués d'un astérisque font l'objet d'un chapitre qui leur est consacré dans la partie IV du manuscrit.

Phylogénie et origine des Acanthocéphales

Les Acanthocéphales (du grec *akanthos* = épine, et *khephalè* = tête) sont un groupe d'endoparasites obligatoires strictement intestinaux notamment caractérisés par la présence d'une « tête » épineuse en position antérieure. Ils possèdent des traits anatomiques les rapprochant à la fois des nématodes et des cestodes parmi les plathelminthes. En effet, les Acanthocéphales sont, comme les nématodes, pseudo-coelomates, dioïques, et de section ronde ce qui a par le passé pu mener à leur confusion avec l'*Ascaris* (Nozais, 1996). Par ailleurs et comme les cestodes, les Acanthocéphales ne possèdent pas de tube digestif et sont munis d'un organe antérieur de fixation à la muqueuse intestinale. En dépit de ces caractères communs, ils présentent également une biologie unique qui justifie leur appartenance à un groupe distinct (Matthews, 1998).

Originellement considéré comme un ordre par Rudolphi en 1808, Lankaster a plus tard proposé d'élever le groupe des *Acanthocephala* au rang de phylum, ce qui a été généralement accepté avec Van Cleave en 1948 (Morris et Crompton, 1982 ; Roberts et Janovy, 2008). Les

données moléculaires ont par la suite montré une certaine proximité du phylum avec celui des *Rotifera*, par ailleurs appuyée par certains traits anatomiques communs avec la classe de *Bdelloidea*, sans que cette proximité soit clairement élucidée, de même que la phylogénie des différentes classes d'Acanthocéphales et leur statut monophylétique à l'intérieur du phylum des *Acanthocephala* (Roberts et Janovy, 2008).

Le registre fossile n'est que peu d'éclairage à l'heure actuelle concernant l'origine et l'évolution des Acanthocéphales. La faune cambrienne a anciennement été utilisée afin d'y rechercher les espèces de vers libres à l'origine du phylum des Acanthocéphales actuels et strictement parasite, notamment en comparaison des nombreux vers libres priapulides, et donc munis d'un proboscis, qui ont pu y être observés (Morris et Crompton, 1982), mais jusqu'à une époque récente, le phylum ne disposait d'aucun registre fossile reconnu (Valentine, 2004). Ces dernières décennies ont vu la multiplication des détections d'œufs d'Acanthocéphales dans des échantillons anciens, dont la plus anciennement datée et récemment faite, a permis de mettre en évidence des œufs particulièrement bien conservés dans un coprolithe attribué à un crocodyliforme du Crétacé Supérieur et découvert dans la région de Santo Anastacio au sud de l'état de Sao Paulo au Brésil (Cardia *et al.*, 2018). Agés de 70 à 80 millions d'années, ces spécimens n'éclairent cependant pas l'origine libre des espèces de ce phylum.

Biologie des Acanthocéphales

Les acanthocéphales possèdent tous un proboscis épineux à leur extrémité antérieure. Cette section du vers possède plusieurs rangées d'épines dont les pointes sont orientées vers l'extrémité postérieure de l'animal afin d'agir comme un système d'ancrage à la muqueuse de l'hôte. Le nombre de rangées d'épines, leur position et leur forme ont souvent une valeur de détermination taxonomique. Dans la plupart des cas, le proboscis est rétractile. En effet, l'organe peut, par contraction musculaire, se loger dans le réceptacle du proboscis, le rhynchocoele, en situation immédiatement postérieure, et inversement, être évaginé par la pression hydrostatique exercée sur la paroi du réceptacle lors du relâchement musculaire (Matthews, 1998).

La surface corporelle de l'Acanthocéphale assure l'absorption des nutriments et est métaboliquement active. L'absence de tube digestif rend donc ce groupe de vers totalement dépendant de la digestion de leurs hôtes et de la localisation intestinale en dehors de laquelle ils ne pourraient pas s'établir (Matthews, 1998).

Le système reproducteur de l'Acanthocéphale est distribué à travers différents compartiments à l'intérieur du pseudo-coelom. Le mâle possède deux testicules et un pénis débouchant sur une bourse copulatrice qui peut être évaginée par pression hydrostatique en position caudale. La bourse est également le point de débouché des glandes de ciment, permettant au vers mâle de faciliter le contact et la fertilisation de la femelle (Matthews, 1998).

Chez la femelle, l'ovaire unique au début de son développement embryonnaire se morcèle en différents fragments ovariens circulant librement à l'intérieur des différents compartiments du pseudo-coelom contenant le système reproducteur. Chaque fragment produit des oocytes à sa surface et est le lieu de l'ovogénèse. Seuls les œufs matures et fertilisés peuvent franchir la paroi utérine et migrer vers le vagin situé en position postérieure puis passer dans le bol fécal de l'hôte (Matthews, 1998).

L'absence de glande séminale et de fermeture complète du vagin, qui provoquerait une perte importante de semence lors de la copulation, est palliée par les glandes de ciment du mâle : lors de la copulation, la bourse copulatrice du mâle enveloppe l'extrémité postérieure de la femelle, et sécrète un ciment temporaire rapidement durci et agissant à la fois comme un joint d'étanchéité et une ceinture de chasteté. Le ciment se brise après une semaine et avoir ainsi limité la perte de semence et assuré que la femelle avait bien été fertilisée (Matthews, 1998).

Macracanthorhynchus sp.

Cycle biologique

Toutes les espèces connues d'Acanthocéphales (un peu plus d'un millier au moment de la revue de Morris et Crompton, 1982), passent au moins par deux hôtes durant leur cycle biologique, dont le premier est toujours un arthropode, qui peut être un crustacé chez les espèces parasitant des hôtes définitifs aquatiques, ou un hexapode, chez les espèces parasitant des hôtes définitifs terrestres. Cet arthropode, qui est l'hôte intermédiaire, doit nécessairement avoir ingéré un œuf du parasite contenant une larve acanthor, et doit lui-même être consommé par un hôte définitif ou paraténique (un hôte de transport) vertébré (Roberts et Janovy, 2008).

Il a été proposé que les œufs d'Acanthocéphales observés pendant ce travail de thèse puissent appartenir à l'espèce *M. hirudinaceus*, qui parasite communément les suidés sauvages et domestiques, et plus rarement les humains. Bien que cela ne puisse pas être démontré de manière définitive sur la seule base des observations morphométriques disponibles, cette espèce sera donc retenue afin d'illustrer le cycle biologique et l'écologie de ce genre de parasites.

Les vers adultes de cette espèce sont de couleur blanche à rosée, de section plus ou moins cylindrique et d'aspect strié. Les mâles mesurent 5 à 10 cm de long pour 3 à 5 mm d'épaisseur alors que les femelles mesurent 20 à 40 cm de long pour 4 à 10 mm d'épaisseur. Comme les autres Acanthocéphales, *M. hirudinaceus* possède un proboscis rétractile précédemment décrit, et mesurant chez cette espèce 1 à 1,5 mm de long. Le parasite vit ainsi fixé à la muqueuse intestinale qu'il perce et à laquelle il s'arrime grâce au proboscis, sans néanmoins s'en nourrir comme chez les vers nématodes du genre *Trichuris* par exemple (Nozais, 1996).

Après copulation, les œufs émis dans le bol alimentaire de l'hôte par une femelle gravide sont expulsés dans le milieu extérieur lors de la défécation. Ces œufs ovales, mesurent environ 80 à 110 μm de long pour 50 à 60 μm de large. Chaque femelle peut pondre jusqu'à 2500 œufs par jour pendant dix mois. L'œuf émis dans les selles contient une larve acanthor formée, possédant une série de crochets qui lui serviront plus tard à perforer la paroi intestinale de l'hôte intermédiaire (Nozais, 1996). L'acanthor est enveloppé d'une coque épaisse en plusieurs couches, dont la plus extérieure, striée à sa surface, brune et souvent opaque en paléoparasitologie, peut empêcher l'observation des couches internes et de l'acanthor qu'elle contient. Les larves acanthors de *M. hirudinaceus* peuvent survivre dans ce milieu extérieur à des températures négatives, résister à la dessiccation, et rester viables jusqu'à trois ans et demi dans le sol (Roberts et Janovy, 2008).

Pour poursuivre leur développement, ces œufs doivent être ingérés par un insecte coprophage, des larves de la famille des *Scarabaeidae* dans la plupart des cas, à l'intérieur de l'intestin desquels ils vont pouvoir éclore. Les acanthors ainsi libérés fouissent à travers la paroi intestinale jusqu'à l'hémocèle où ils se développent en larves acanthelles 5 à 20 jours après l'infection, puis en larves cystacanthes 60 à 90 jours après l'infection. Diverses modifications comportementales de l'hôte intermédiaire infecté par différentes espèces d'Acanthocéphales et favorisant sa prédation par un hôte définitif ont été observées. L'hôte définitif, ici un suidé, est infecté en ingérant une larve ou un adulte scarabée lui-même infecté par une larve infestante cystacanche (Roberts et Janovy, 2008).

Libérée de la cavité générale de l'insecte dans lequel elle se trouvait, la larve s'arrime à la muqueuse de l'intestin grêle de l'hôte définitif où elle atteint la maturité sexuelle en deux à trois mois. Il est à noter que l'infection humaine peut par exemple survenir via l'ingestion de larves du ténébrion meunier, *Tenebrio molitor*, ou ver de farine (Nozais, 1996). Bien que quelques cas d'acanthocéphaloses humaines, dont certaines à *M. hirudinaceus* aient été documentées depuis 1859, cette infection y reste accidentelle et rare, contrairement aux hôtes animaux non-humains, sauvages ou domestiques, chez lesquels des épizooties soudaines peuvent être à l'origine d'importantes augmentations de mortalité durant une courte période (Roberts et Janovy, 2008).

Épidémiologie et pathologie

M. hirudinaceus est un parasite cosmopolite du porc. Des prévalences de 19 à 64% ont pu être observées chez diverses populations de sangliers (*Sus scrofa*) du pourtour méditerranéen (Sarkari *et al.*, 2016), mettant parfois en évidence une plus forte prévalence chez les individus adultes (Mowlavi *et al.*, 2006). Les examens histopathologiques des tissus intestinaux des animaux infestés détectés lors de telles enquêtes épidémiologiques mettent en évidence l'inflammation importante et la nécrose avec ulcère des tissus lésés (Sarkari *et al.*, 2016). Chez l'hôte définitif, les conséquences pathologiques graves de l'infection sont dues à l'action traumatique de l'arrimage des vers adultes à la muqueuse de l'intestin grêle et à la tendance de ces vers à régulièrement changer de point d'ancrage. Les lésions provoquées par les proboscis des vers, leur grand nombre et leur mouvement peuvent rapidement aboutir à la perforation intestinale dont l'issue est souvent fatale à court terme chez les mammifères. La douleur abdominale associée est importante, pouvant conduire au délire chez l'espèce humaine, et les lésions tissulaires favoriser les infections bactériennes secondaires et péritonites généralisées (Roberts et Janovy, 2008).

PARTIE IV : Contribution de la paléoparasitologie à la connaissance des populations antiques méditerranéennes

Chapitre 1 : Hygiène, santé et salubrité : étude paléoparasitologique des latrines de Délos.

Ce chapitre a fait l'objet d'une publication scientifique :

Roche, K., Capelli, N., Le Bailly, M. Etude paléoparasitologique des latrines de Délos : approche microscopique et moléculaire *In* Bouet, A., (*Dir.*), Les latrines de Délos, Ausonius

Introduction

De 2012 à 2016, les latrines de Délos (Figure 13) ont fait l'objet d'un échantillonnage systématique en vue de l'analyse paléoparasitologique des matériaux qui pourraient y être prélevés (concrétions et sédiments). Si l'approche classique en microscopie optique, majoritairement employée dans la discipline, a été utilisée, elle a également été doublée d'une approche moléculaire ciblant l'ADN ancien (ADNa) de plusieurs espèces d'helminthes gastro-intestinaux. Dans une moindre mesure, la recherche de paléo-antigènes a également été pratiquée. Il s'agit à notre connaissance de la première étude systématique de ce genre à l'échelle d'une ville gréco-romaine.



Figure 13 Latrines k de la Maison des Masques (maison B), vues depuis l'Est à gauche, et depuis l'Ouest à droite. De forme caractéristique « en L », les latrines se déversent dans l'égoût de la rue en passant sous le mur extérieur.

Matériels et méthodes

Les échantillons étudiés

Entre 2012 et 2016, 59 latrines de la ville de Délos ont fait l'objet de prélèvements en vue d'analyses paléoparasitologiques (**Figure 14**). Un certain nombre de latrines par ailleurs relevées et étudiées sur le plan architectural dans le cadre de ce projet, ne présentaient aucun résidus susceptibles de faire l'objet de telles analyses. Le nombre d'échantillons par latrine étudiée varie entre un et quatre, avec, en moyenne, un peu moins de deux échantillons étudiés par latrines (113 échantillons au total). Certains de ces échantillons ont fait l'objet de sous-échantillonnages destinés aux analyses immunologiques et paléogénétiques. Dans la majeure partie des cas (n=93), les échantillons collectés sur le terrain consistaient en des concrétions blanchâtres qui tapissaient encore partiellement le fond de certaines latrines et de leurs conduits d'évacuation. Les analyses physiques de ces résidus parfois retrouvés sur le dallage de circulation des pièces où étaient situées les latrines, ont montré que leur couche superficielle était composée de phosphate de calcium reposant sur un substrat calcaire avec une importante diffusion du phosphore à l'intérieur du matériau. Ces observations ont été interprétées comme l'interaction du support calcaire avec son environnement par recristallisation, certainement en relation avec le déversement fréquent d'urine, riche en phosphore et ayant pu provoquer ces phénomènes de néoformation. Les autres échantillons (n=20) consistaient en sédiments prélevés dans les interstices de la maçonnerie des conduits des latrines lorsque celles-ci n'étaient pas enduites de béton hydraulique, ou, plus souvent, dans la coupe stratigraphique de conduits d'évacuation n'ayant pas été dégagés lors des fouilles anciennes.



Figure 14 Localisation des structures échantillonnées à Délos. Carte centrée sur le sanctuaire d'Apollon. Les secteurs excentrés du quartier du Stade au Nord-Est, et de la maison de Fourni au Sud-Ouest, ne sont pas montrés. Les structures ont été géolocalisées et replacées sur le WEB SIG de Délos (<https://sig-delos.efa.gr/index.php?SIG=Delos>).

Les structures étudiées sont distribuées dans toutes les zones actuellement dégagées de la ville, ainsi que, plus ponctuellement, dans sa zone agraire, mais toujours en contexte d'habitation. Ces latrines se trouvent néanmoins le plus souvent concentrées dans la zone sud de la ville, soit le quartier du Théâtre et le quartier de l'Inopos (28 latrines), dans le quartier Nord, ou quartier du lac (16 latrines), ainsi qu'aux abords du sanctuaire d'Apollon dans la plaine centrale (12 latrines). Les autres latrines échantillonnées se trouvent dans le quartier du stade sur la côte orientale de l'île (n=3), dans le sanctuaire de la déesse syrienne accroché au flanc du mont Cynthe (n=1), et dans la baie de Fourni (n=1). En plus de se trouver en dehors de la zone urbaine, dans la maison dite de Fourni au sud du Mont Cynthe, cette dernière structure a pour originalité de ne pas avoir fait l'objet d'un prélèvement dans le conduit de ses latrines, qui ne présentaient alors plus aucun résidu, mais au fond de sa fosse de vidange, située à l'extérieur des latrines. De la même manière, et bien que situées au cœur de la ville, les latrines du Bastion, aux abords du Sanctuaire, n'ont, elles non plus, livré aucun résidu dans leur conduit *sensu strictu*. C'est en fait une fosse, située à son contact immédiat, et qui pourrait avoir été un puits, qui a fait l'objet de prélèvements.

Méthodes

Plusieurs méthodes d'analyses ont été employées à la recherche de parasites gastrointestinaux anciens dans les latrines de Délos : la microscopie optique, la paléogénétique, et l'immunodiagnostic. La microscopie optique, comme son nom l'indique, est basée sur la reconnaissance visuelle des restes microscopiques des organismes recherchés. Elle est donc

limitée à la détection de parasites susceptibles de laisser de tels restes dans les échantillons analysés, principalement des helminthes ovipares dont les œufs rigides pourront être observés et déterminés visuellement en fonction de leur conformation. La paléogénétique s'intéresse aux molécules d'ADN ancien laissées dans leur environnement par toutes sortes d'organismes qu'il est possible de cibler spécifiquement. On peut alors isoler et identifier la signature moléculaire de ces organismes, comme des helminthes gastrointestinaux, même en l'absence de restes observables, fussent-ils microscopiques ou non. L'immunodiagnostic (ici le test ELISA) exploite quant à lui les réactions anticorps-antigènes à la recherche de paléo-antigènes et est particulièrement utilisé en paléoparasitologie pour la détection de parasites unicellulaires difficilement observables sous microscope. Contrairement aux méthodes microscopiques et paléogénétiques, le test ELISA ne fait l'objet d'aucune optimisation pour des matériaux anciens et est utilisé tel qu'en parasitologie médicale, destiné donc à l'identification de molécules modernes non taphonomisées.

Les techniques employées permettent donc de suppléer leurs inconvénients et avantages respectifs en recherchant différents types de restes (micro-restes, ADN, antigènes) qui peuvent avoir été plus ou moins bien conservés. Les réactifs employés dans la préparation des échantillons pouvant être nuisibles d'une technique à l'autre, les échantillons bruts ont préalablement été sous-échantillonnés en autant de fractions que nécessaires afin d'être distribués entre chaque approche avant tout traitement particulier.

Ainsi, parmi les cent treize échantillons initialement collectés et analysés en microscopie optique, quatre d'entre eux ont fait l'objet d'un sous-échantillonnage pour l'analyse paléogénétique, et treize d'entre eux ont fait l'objet d'un sous-échantillonnage pour l'analyse immunologique.

Identification des séquences

Les séquences obtenues ont été éditées après visualisation du chromatogramme sur le logiciel BioEdit (www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html) pour l'identification de bases indéterminées, et comparées avec la base de données en ligne sur NCBI par une requête BlastN (www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast/). L'alignement des séquences obtenues et la recherche d'homologies avec les génomes modernes ont été faits sur le logiciel MEGA X (www.megasoftware.net).

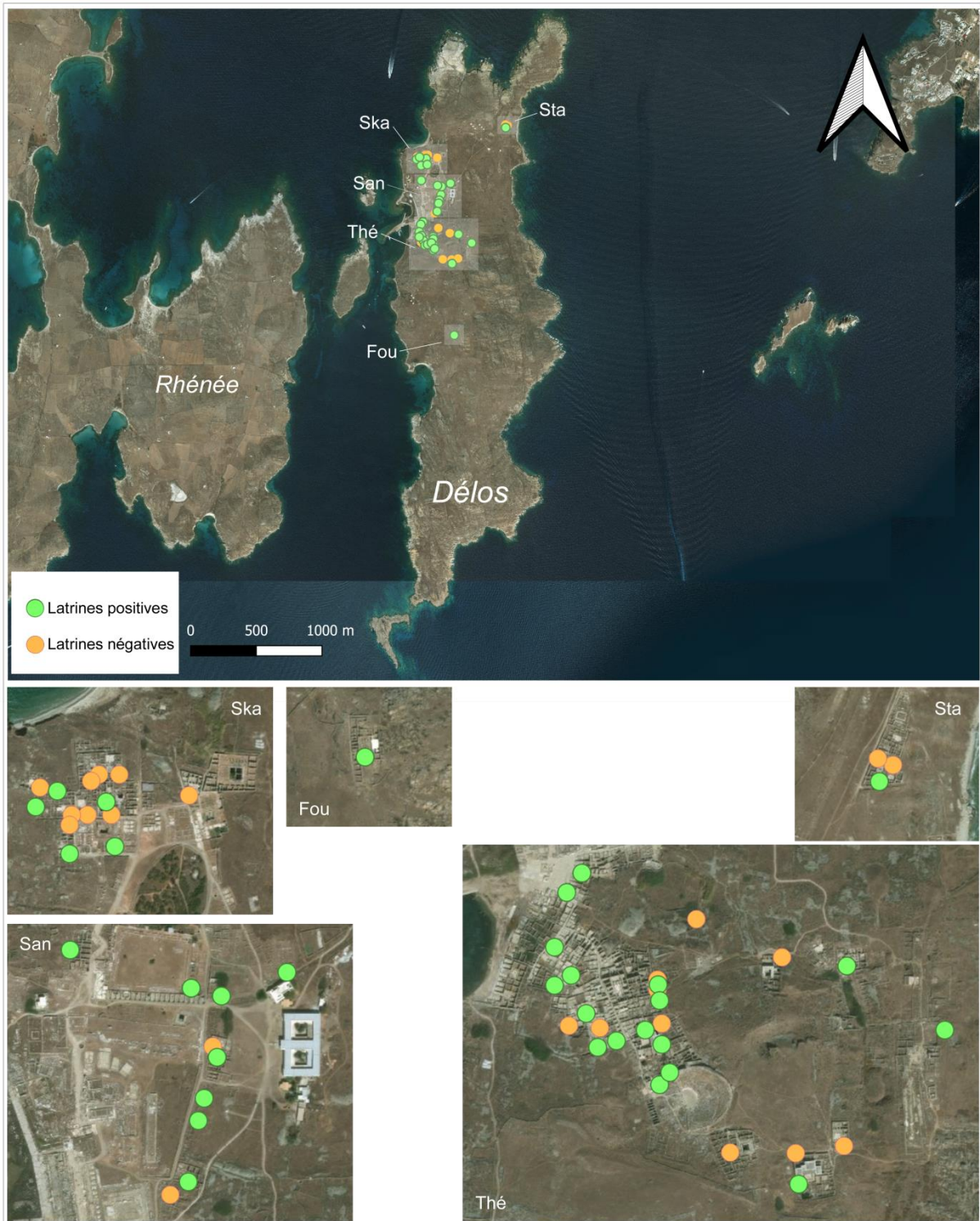


Figure 15 Distribution des latrines positives et négatives sur l'île de Délos. Les prélèvements ont été concentrés dans les zones urbaines actuellement fouillées de la ville. Le quartier du stade, excentré, demeure une zone urbanisée, contrairement aux prélèvements opérés dans la maison de Fourni dans la zone agraire au sud, représentant une véritable exception dans l'assemblage. Ska: quartier de Skardana ; San : abords du sanctuaire d'Apollon ; Thé : quartier du Théâtre et terrasse des dieux étrangers ; Fou : maison de Fourni ; Sta : quartier du stade. Les structures ont été géolocalisées et replacées sur le fond de carte ESRI Satellite (ArcGIS/World Imagery) avec QGIS 3.8

Résultats

Microscopie optique

Parmi les cent treize échantillons systématiquement observés sous microscope optique à la recherche de formes de résistance parasites, 43% (n=49) se sont révélés positifs à la présence d'au moins un taxon ou morphotype d'œufs d'helminthes gastrointestinaux (**Figure 15**). Ces échantillons positifs sont distribués dans trente-cinq latrines (ou fosses/conduites associées), portant à 57% la proportion des structures positives sur l'ensemble du corpus. La localisation des structures positives reflète sensiblement celle des structures étudiées puisqu'on y retrouve l'ensemble des zones actuellement fouillées de la ville, aussi bien dans les quartiers fortement urbanisés et intensément échantillonnés, à savoir Skardana, le quartier du Théâtre et les abords du Sanctuaire d'Apollon, que les zones plus marginalement peuplées et étudiées dans le cadre de ce travail, à savoir le quartier du stade, la terrasse des dieux étrangers, ou la baie de Fourni (**Figure 16**).

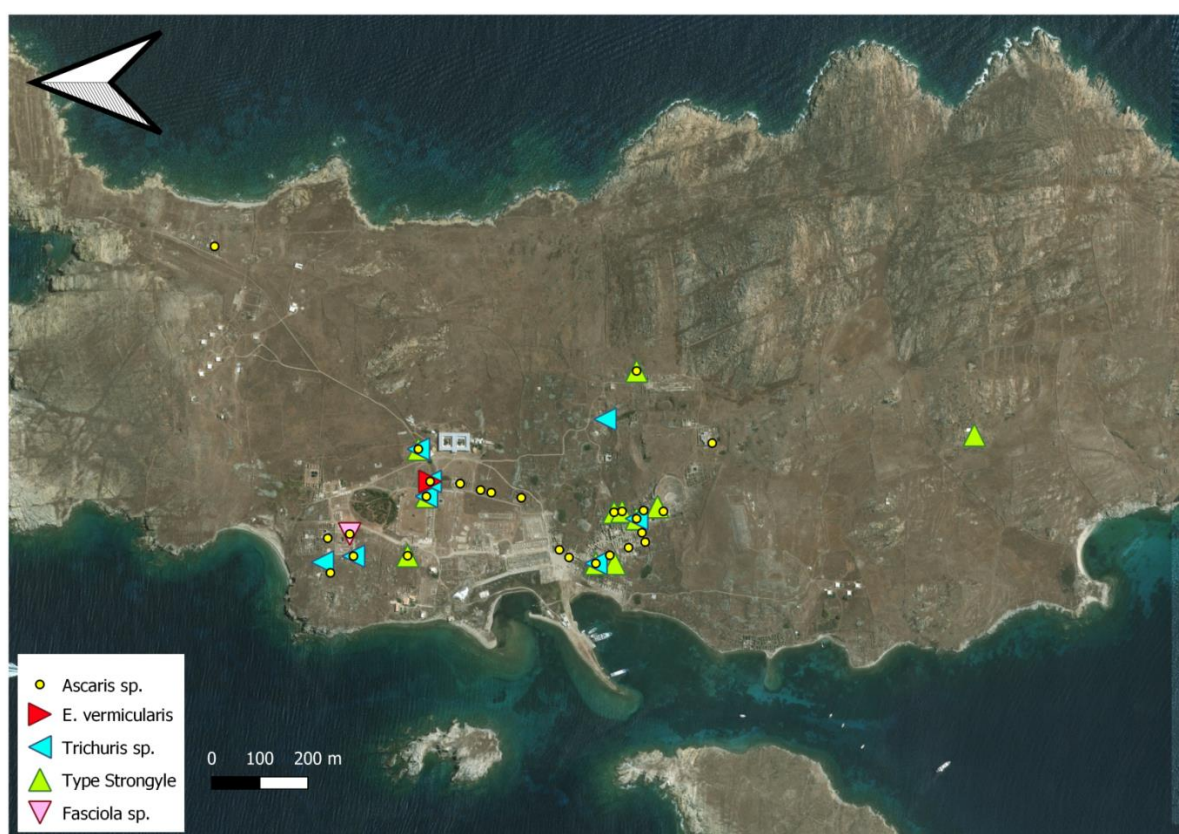


Figure 16 Distribution des helminthes détectés à Délos.

Ce sont au total 1199 restes qui ont pu être observés, avec une forte variation inter-échantillon allant de 1 à 375 œufs par échantillon. Les œufs observés peuvent être attribués à quatre groupes de parasites : les *Ascarididae*, les *Trichocephalida*, les œufs de type Strongyle, et un unique œuf de trématode probablement du genre *Fasciola* sp. Les *Ascarididae* (ou *Ascaridés*) représentent l'écrasante majorité des observations, soit 96% (n=1155) du total. Les *Trichocephalida* (ou *Trichocephalidés*) et les œufs de type Strongyle représentent communément moins de 0,04% de l'ensemble (n=25 ; n=20) (Figure 17).

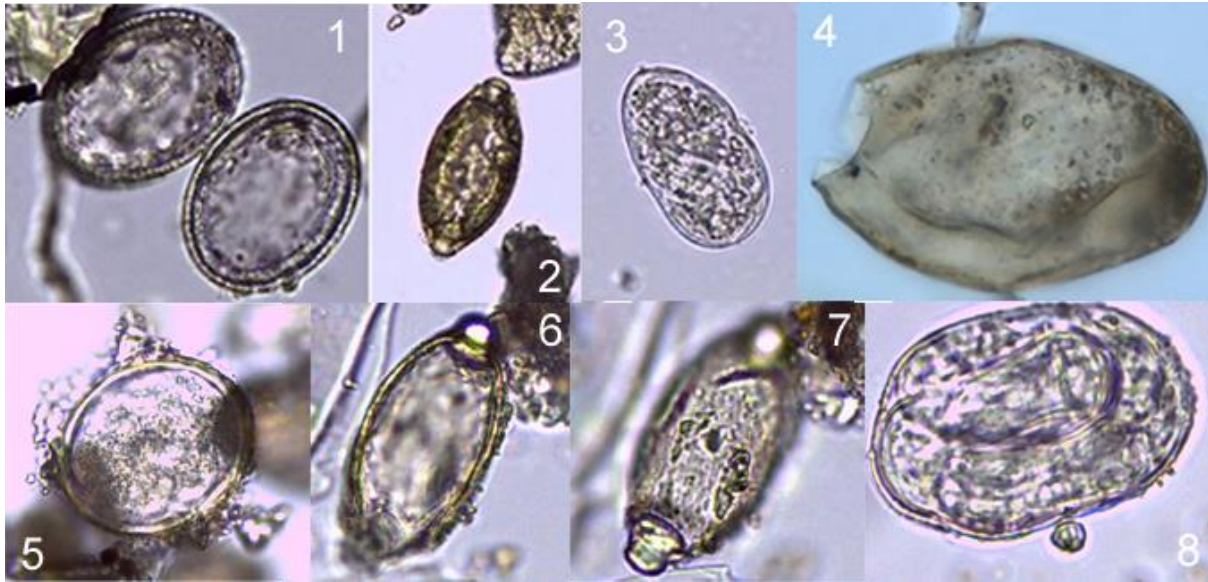


Figure 17 Œufs observés sous microscope optique dans les échantillons déliens. La première et la deuxième ligne ne sont pas à l'échelle. 1 : deux œufs décortiqués de type Ascaridé, certainement *A. lumbricoides* (62,2 x 45,7 et 60,5 x 47,4 μm , x400) ; 2 : œuf de *Trichuris* sp. à la forme caractéristique dite en « citron », certainement *T. trichiura* (54,7 x 27,2 μm , x400) ; 3 : œuf de type Strongyle contenant un juvénile, possible *S. stercoralis* (57,9 x 32,8 μm , x400) ; 4 : œuf de *Fasciola* sp., certainement *F. hepatica* à l'aspect typiquement tanné et dont l'opercule est manquant (113 x 77 μm , x600). 5 : œuf d'*Ascaris* sp. montrant sur la surface droite la préservation de sa coque utérine, contrairement aux spécimens de type Ascaridé montrés au dessus. Le contenu cellulaire semble montrer un juvénile formé. 6-7 : œuf de *Trichuris* sp. en coupe et en surface, montrant un volume interne vide, contrairement au spécimen montré au dessus dont l'endocaste est partiellement minéralisé. Les bouchons polaires muqueux semblent particulièrement bien préservés. La surface pourrait évoquer la présence d'une ornementation assimilable à celle observée chez le genre *Capillaria*, mais la conservation rend cette interprétation douteuse. 8 : œuf de type Strongyle d'une taille assimilable à celle de *Strongyloides stercoralis*. Comme c'est souvent le cas avec les Strongyles, le juvénile semble particulièrement bien préservé, bien qu'ici les parois de l'œuf aient été écrasées contre le ver qu'il contient (par comparaison avec le spécimen montré au dessus).

La qualité de préservation des restes est particulièrement mauvaise, en témoigne la disparition quasiment systématique de l'enveloppe externe des œufs de type *Ascarididae*. Un seul de ces œufs a, sous microscope, montré les reliquats très dégradés de cette couche utérine. Similairement, une grande partie des œufs de type *Trichocephalida* n'a été reconnue que grâce à la minéralisation de leur endocaste, épousant ainsi les formes du volume interne de l'œuf et de ses ouvertures alors que la coque avait entièrement ou partiellement disparu. L'unique œuf de trématode observé était également déformé et partiellement déchiré, sans

toutefois perdre ses caractères diagnostics. La conservation des œufs de type Strongyle est variable, mais globalement bien meilleure que celle des autres œufs.

Paléogénétique

Parmi les huit échantillons provenant de quatre latrines ou structures associées ayant fait l'objet d'extractions d'ADN sédimentaire, tous ont donné des amplicons pour au moins une espèce de parasite. Les quatre structures testées se trouvent réparties dans le quartier du Théâtre (n=2) et les abords du Sanctuaire d'Apollon (n=2). Chaque structure ayant fait l'objet d'une double extraction d'ADN, les résultats mentionnés *infra* se rapportent à huit échantillons au total. Seuls des échantillons de sédiments (et non de concrétions) ont fait l'objet d'extractions d'ADN. Sur 168 réactions PCR, 28 (17%) ont donné des résultats observables sous illuminateur Bio-Rad après électrophorèse. Parmi celles-ci, le couple d'amorces ciblant l'*Ascaris* a été le plus efficace avec 19 réactions positives sur 24, suivi des amorces ciblant respectivement *Trichuris trichiura* (8/24) et *E. vermicularis* (1/24). Les résultats préliminaires obtenus pour les deux cestodes recherchés, *Taenia* sp. et *Dyphillobotrium* sp., ainsi que les trématodes *Fasciola* sp. et *Dicrocoelium* sp. se sont révélés inexploitable. Il est à noter que la seule structure ayant livré un œuf de *Fasciola* n'a pas pu être testée en paléogénétique pour ce même parasite.

Les amorces pour *Ascaris* sp. ont donné des amplicons pour sept des échantillons répartis dans les quatre structures testées, alors que des amplicons pour *Trichuris trichiura* ont été obtenus dans trois échantillons correspondant à deux structures. Les amplicons pour *Enterobius vermicularis* n'ont été observés que dans une seule structure. Les structures testées ont ainsi fourni des amplicons pour un à trois des sept couples d'amorces utilisés.

Structures	ADN			Microscopie		
	<i>Ascaris sp.</i>	<i>T. trichiura</i>	<i>E. vermicularis</i>	<i>Ascarididae</i>	<i>Trichocephalida</i>	Strongyles
[R8]	oui	-	-	oui	-	-
[L50]	oui	-	-	oui	-	-
[L57]	oui	oui	-	oui	-	oui
[L22]	oui	oui	oui	oui	oui	-

Tableau 7 Résultats comparatifs de la microscopie et de l'ADN ancien dans les structures ayant fait l'objet des deux types d'analyses. L'ADN confirme la présence d'*Ascaris sp.* là où des œufs de type *Ascarididae* ont de surcroît systématiquement été observés. La présence de *Trichuris trichiura* est également précisée dans la structure [L22] où des œufs du genre *Trichuris sp.*, ou à tout le moins de type *Trichocephalida*, avaient été observés, ainsi que dans la structure [L57] où aucun œuf de ce type n'avait été détecté. L'ADN révèle également la présence d'*E. vermicularis* dans la structure [L22] où aucun œuf de ce type n'avait été observé. En contrepartie, la microscopie a révélé la présence d'œufs de types Strongyle qui n'ont pas fait l'objet de ciblage en biologie moléculaire, ici dans la structure [L57], mais également d'autres structures déliennes qui n'ont à ce jour pas fait l'objet de recherche d'ADN ancien. Le numéro des structures renvoie au catalogue des latrines de Délos établi par Bouet *et al.*, 2021. La correspondance avec la carte archéologique de Délos peut être retrouvée en Annexes 2 du présent manuscrit.

Les amplicons ont été clonés conformément aux modalités exposées précédemment et les clones transformés ont été séquencés par la méthode Sanger sur les deux brins de leurs plasmides. Les séquences obtenues, après nettoyage des fragments d'inserts et édition manuelle des bases indéterminées ont retourné sur NCBI les alignements attendus avec les génomes recherchés, respectivement ceux d'*Ascaris sp.*, *Trichuris trichiura*, et *Enterobius vermicularis*.

Immunodiagnostic (ELISA)

Aucun des 39 tests (chacun des 13 échantillons initiaux testé 3 fois) n'a retourné une densité optique suffisante pour être considéré positif sans ambiguïté.

Discussion

Authenticité des résultats

Le projet dans le cadre duquel s'inscrivent les présentes analyses n'ayant porté que sur des structures archéologiques anciennement fouillées, la plupart des échantillons prélevés ne proviennent pas de couches archéologiques fraîches. Dans la plupart des cas, les concrétions analysées ont été exposées aux intempéries et aux bioturbations au moins à l'époque des

fouilles anciennes, voire sont restées exposées à l'air libre depuis lors. Plusieurs éléments cependant permettent d'affirmer l'authenticité de l'origine archéologique des restes observés.

Il s'agit en premier lieu de la détection d'un spectre parasitaire caractéristique de l'hôte humain, ce qui est attendu pour un tel milieu anthropique (*Ascaris* sp., certainement *A. lumbricoides*, *T. trichiura*, *E. vermicularis* et probablement *S. stercoralis*). Les parasites d'animaux non-humains qui ont été détectés sont rares et proviennent de contextes particuliers dans le corpus dont il est également possible de soutenir l'authenticité (*Fasciola* sp. ainsi qu'un ou plusieurs nématodes appartenant à la famille des *Trichostrongylidae*). Ces parasitoses sont de surcroît transmissibles à l'espèce humaine, et leur détection en contexte anthropique ne représente pas une anomalie. Cette absence de pollutions animales modernes évidentes rend compte des précautions prises sur le terrain afin d'éviter les zones accessibles aux nombreux animaux péri-domestiques et d'élevage (essentiellement des chats errants dans le quartier de Skardana et des moutons dans le quartier du théâtre) qui auraient pu souiller les prélèvements.

Dans des contextes favorables de conservation, tels les milieux humides, les parasites anciens peuvent présenter un aspect relativement frais, voire exceptionnellement préservé (par exemple Roche *et al.*, 2020a). Ce n'est pas le cas des spécimens classiquement observés pour ce contexte chrono-géographique. Les spécimens observés sous microscope dans le cas présent montrent dans leur extrême majorité une altération taphonomique très importante qui est typiquement observée sur les spécimens archéologiques de la zone méditerranéenne (par exemple Roche *et al.*, 2019). L'application à l'identique du protocole d'extraction RHM à d'autres milieux de conservation indique que la méthode n'est pas en cause dans l'altération morphologique des restes parasitaires observés.

Enfin, les échantillons prélevés dans des couches archéologiques fraîches et par ailleurs couvertes par la structure de laquelle ils proviennent (rendant hautement improbable la pollution par l'écoulement de déjections modernes depuis le sol actuel) ont livré la même diversité parasitaire, voire une diversité supérieure, que les échantillons laissés à l'air libre. Il faut par ailleurs remarquer que 75 % (n=15) des 20 échantillons de sédiments ont livré des restes de parasites, contre 31 % (n=29), des 93 échantillons de concrétions. Les échantillons de sédiments, qui fournissent le matériau d'analyse le plus fiable quant à l'authenticité des restes qui y sont observés, tendent donc également à fournir plus d'observations que les concrétions. Au départ prises pour des amas de coprolithes, il apparaît qu'elles n'ont pas été très propices à l'incorporation des restes parasitaires de la matière fécale adjacente. Ces concrétions, souvent assez fines (moins d'un centimètre d'épaisseur), ayant été préparées d'un bloc sans en retirer la surface extérieure, il est permis de penser que les rares œufs qui y ont été détectés tendaient à se trouver dans leur couche superficielle, voire incrustés à leur surface, plutôt qu'intégrés profondément dans le matériau.

Les analyses paléogénétiques appuient et précisent les constats précédents et basés sur les observations microscopiques. En effet, les séquences ADN obtenues, à l'exception de celles de l'*Ascaris* dont les amorces n'ont pas été conçues pour différencier les formes humaine et porcine, pointent indubitablement des parasites de l'espèce humaine, comme *Enterobius vermicularis*. Il pourrait être allégué que les amorces ciblant le *Trichocéphale* humain aient pu s'hybrider accidentellement avec des séquences ADN du *Trichocéphale* du porc dont les ossements ont par ailleurs été retrouvés dans certaines structures. Nonobstant l'alignement plus important avec les séquences du parasite humain actuellement déposées dans GenBank,

l'inférence de parenté phylogénétique des séquences anciennes obtenues à Délos avec les génomes mitochondriaux des différentes espèces actuelles de *Trichuris* montre que celles-ci tombent clairement dans la diversité génétique des parasites de l'espèce humaine (**Figure 18**).

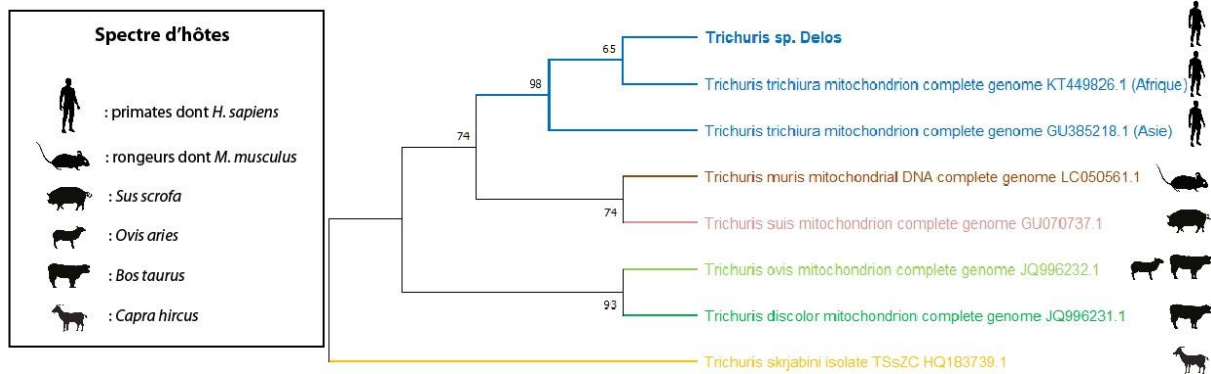


Figure 18 Inférence phylogénétique des fragments obtenus du gène LSU de *Trichuris* sp. par la méthode Maximum of Likelihood (ML) à 1000 tests bootstraps après alignement des séquences sous le logiciel MEGA X (www.megasoftware.net). La séquence obtenue s'apparente plus fortement au Trichocéphale infestant les humains et les autres primates qu'aux espèces proches infestant les autres animaux, notamment *T. suis*, parasite du porc. L'arbre phylogénétique a été enraciné sur *T. skrjabini*.

Causes et conséquences du fardeau parasitaire détecté

Le fardeau parasitaire observé à Délos est dominé par l'*Ascaris*, certainement *A. lumbricoides* et le *Trichocéphale*, certainement humain dans la majeure partie des cas, *T. trichiura*. Ces deux parasites à transmission féco-orale doivent disséminer leurs œufs microscopiques sur le sol via la défécation d'un premier hôte infesté de sorte à être transmis à un nouvel hôte. Dans le sol (on parle de réservoir tellurique), ces œufs deviennent infestants en quelques semaines et peuvent alors être ingérés involontairement par un nouvel hôte. La contamination est généralement le fait du contact entre les mains sales et la bouche, notamment chez les jeunes enfants, ainsi que l'ingestion d'eau contaminée ou de légumes souillés d'excréments humains. L'utilisation de ces derniers pour la fertilisation des cultures, mais également l'absence de toilettes modernes (incluant chasse d'eau et connexion au réseau d'égout) ainsi qu'une forte densité de population sont autant de facteurs augmentant drastiquement le risque d'infestation dans une communauté. Ces deux parasitoses sont généralement asymptomatiques de nos jours en Occident et leur prévalence est très basse dans cette région du monde. Dans les régions moins favorisées en revanche, ces parasitoses peuvent être à l'origine de spoliations nutritionnelles, de retards de croissance, d'anémies, de douleurs abdominales, de diarrhées ou encore d'occlusions intestinales (Crompton, 2001; Savioli and Albonico, 2004; de Silva and Cooper, 2011). De surcroît, elles peuvent dramatiquement favoriser et aggraver d'autres infections d'origine bactérienne ou virale, ou amplifier un état de sous-nutrition.

Chez les espèces auxquelles appartiennent les œufs observés de type Strongyle, l'éclosion de ces œufs a lieu directement dans le sol sur lequel ils ont été disséminés lors de la défécation

de leur hôte. Les vers du genre *Strongyloides* en particuliers, peuvent perdurer dans ce milieu sous un cycle de vie libre, ou, si les conditions ne sont pas assez favorables, parasiter un nouvel hôte. L'infestation se fait alors ici par contact cutané avec l'hôte (typiquement par le fait de marcher pieds nus). Les œufs émis dans les selles sont cependant rares, ceux-ci ayant tendance à éclore directement sur la muqueuse intestinale lors d'un cycle de type parasitaire (par opposition au cycle de vie libre), mais peuvent néanmoins s'observer dans des selles diarrhéiques voire normales (Datry et Carrière, 1996 ; Roberts et Janovy, 2008 ; Bogitsh *et al.*, 2012). Observés concomitamment avec des œufs de type *Ascarididae* et *Trichocephalida*, et correspondant de surcroît aux mesures attendues, il est fort probable qu'une partie des spécimens de type Strongyle appartiennent effectivement à l'espèce parasitant l'espèce humaine, *Strongyloides stercoralis*. L'infection humaine est donc favorisée par la circulation sur un sol souillé de matières fécales, et, plus rarement par l'ingestion d'eau contaminée. La strongyloïdose (ou anguillulose), se manifeste par trois phases : cutanée, pulmonaire et intestinale. Cette dernière, en dehors de nausées, vomissements et douleurs, peut aboutir en cas d'infestation prolongée à la dysenterie chronique et à la perte de poids. Dans le cas d'infestation lourde, l'issue peut être fatale du fait de l'invasion massive du tissu intestinal par le parasite et aux infections bactériennes opportunistes permises par la dégradation de la muqueuse intestinale (Bogitsh *et al.*, 2012).

Certains œufs de type Strongyle, notamment ceux observés à la maison de Fourni, appartiennent plus vraisemblablement à une ou plusieurs espèces de la famille des *Trichonstrongylidés*, tels *Ostertagia ostertagi* ou *Trychostrongylus axei*. Les cycles de ces parasites qui touchent typiquement les ruminants domestiques ou les équidés sont semblables les uns ou autres et ils peuvent ainsi se retrouver à infester une même pâture ainsi que le cheptel y paissant. L'effet cumulé de ce polyparasitisme aggrave alors les pertes économiques des activités d'élevage. Les conséquences pathologiques de ces parasitoses cosmopolites sont les mêmes chez les animaux d'élevage et les humains qu'elles touchent occasionnellement : dommages traumatiques consécutifs au fuissement des juvéniles dans la muqueuse intestinale et à l'activité hématophage des vers adultes (dans le cas d'espèces hématophages) ; empoisonnement par les rejets métaboliques des vers adultes ; déficiences thyroïdiennes ; ainsi qu'en cas d'infestation lourde, émaciation et anémie. L'infestation se fait ici par ingestion de végétaux ou d'eau investis par les vers juvéniles ayant éclos au sol après défécation de l'hôte (Roberts et Janovy, 2008).

Enterobius vermicularis, dont la signature moléculaire a été détectée dans un échantillon des latrines du Sanctuaire, est un parasite touchant spécifiquement l'espèce humaine. Contrairement aux géo-helminthiases (qui nécessitent un passage dans le sol), l'infestation par *E. vermicularis* (ou oxyure), peut se faire via l'éclosion directe des œufs déposés par la femelle sur la marge anale d'une personne infestée en cas d'hygiène corporelle déficiente. Très légers, les œufs peuvent également être disséminés dans l'air ambiant (notamment via le secouement de la literie), et favoriser l'infestation par inhalation et ingestion. Cette parasitose est encore relativement fréquente en Occident, et touche surtout les jeunes enfants. La plupart des cas restent asymptomatiques, mais les infestations lourdes peuvent être dommageables, notamment à cause des lésions provoquées à la muqueuse intestinale par un trop grand nombre de vers ou à la marge anale par un trop grand nombre d'œufs. Ces deux situations peuvent entraîner infections opportunistes voire issue fatale dans le cas de pénétration des vers au niveau de la muqueuse (Roberts et Janovy, 2008). Les démangeaisons nocturnes provoquées par la migration des femelles en dehors du corps ont de longue date été reconnus par les médecins anciens, comme nous le verrons plus loin.

Fasciola sp., probablement *F. hepatica*, la douve du mouton, peut également être transmise à l'hôte humain, dont elle est le plus grand parasite trématode connu. Contrairement aux nématodes précédemment décrits, ce ver strictement parasite passe par un cycle biologique indirect, nécessitant des hôtes intermédiaires afin de compléter son développement : d'abord un mollusque aquatique, ensuite une plante hygrophile, et enfin un hôte définitif herbivore, le plus généralement un ruminant. Cette parasitose est cosmopolite et particulièrement présente dans les zones d'élevage du mouton et de bétail, d'où proviennent par ailleurs les cas d'infestations humaines les plus nombreux. Le cycle biologique semi aquatique de ce parasite pourrait être favorisé par la présence de pâtures irriguées (Sánchez -Andrade *et al.*, 2002). De fait, et comme pour les trichostrongyloïdoses, le fardeau de la fasciolose est avant tout agronomique et économique consécutivement à l'action de spoliation des vers, nuisibles à la croissance et à la production de lait, de laine et de viande des animaux touchés. Chez les animaux non humains, l'activité traumatique dans le parenchyme hépatique est à l'origine d'hémorragie et d'atrophie des canaux sanguins à l'issue fatale. Chez l'hôte humain, la fasciolose à *F. hepatica* (ou distomatose hépatique) implique céphalées, mal de dos, tremblements et fièvres. L'infestation avancée est caractérisée par le gonflement du foie en état de cirrhose couplé aux diarrhées et à l'anémie.

Le fardeau parasitaire dans une cité gréco-romaine

Les sources historiques

Dans sa thèse de doctorat, Benjamin Dufour (2015), a fait la revue des sources historiques faisant état du parasitisme à l'époque gréco-romaine. Il est utile de préciser d'emblée que le terme lui-même de « parasite », n'a, à cette époque, absolument pas le sens biologique et médical que nous lui prêtons actuellement. En effet, chez les auteurs grecs et romains, le parasite, de παράσιτος en grec, ou *parasitus* en latin, désigne celui qui, parmi des convives, est toléré à un repas, sans y avoir été véritablement invité. Il s'agit de celui qui est à côté, παρά (*para*) de la nourriture, σιτος (*sitos*), à savoir donc *celui qui mange à la table d'autrui* (Grove, 1990). De fait, les mentions de parasites dans les sources historiques grecques et romaines, donnent à voir des personnages de pique-assiettes dans des comédies, plutôt que des agents pathogènes dans des textes médicaux. Cet emploi du terme parasite, définissant un organisme vivant aux dépens d'un autre, n'apparaîtra qu'à l'époque contemporaine (Hassl, 2005).

Pour autant, il est possible de trouver chez les auteurs anciens, de nombreuses références aux parasites gastrointestinaux des humains et des autres animaux. Les termes employés pour les désigner ne recourent cependant jamais au mot « parasite ». Ces références se trouvent, de manière plus ou moins détaillée, chez divers auteurs, médecins, agronomes, vétérinaires, de l'époque classique à l'époque tardo-antique.

La lecture et l'utilisation de textes médicaux ou naturalistes antérieurs est connue chez les auteurs anciens (Cushing, 1999), comme le rappelle Dufour (2015). On sait ainsi par exemple que Galien (2^{em} – 3^{em} siècle de notre ère), consultait les ouvrages de ses contemporains, comme de ses prédécesseurs, notamment d'Hippocrate (5^{em} – 4^{em} siècle avant notre ère) (Gourevitch, 2011). Aussi, les savoirs d'une époque concernant les parasites intestinaux ont certainement été hérités en partie de traditions et d'aires culturelles autres, puisque l'on sait par exemple qu'Hippocrate a notamment voyagé en Égypte ainsi qu'en Syrie et en Italie, voyages durant lesquels il a étudié la médecine (Halioua, 2009). Or, il est possible de trouver

des mentions de vers intestinaux dans des papyrus médicaux d'époque dynastique, comme le papyrus d'Ebers (Bauduer, 2018).

Du 5^{ème} siècle avant notre ère au 4^{ème} siècle de notre ère, Dufour (2015) a relevé une quinzaine d'auteurs d'expression grecque faisant mention de vers parasites observés chez l'hôte humain ou d'autres animaux. On y retrouve bien entendu Hippocrate et Galien, mais également Aristote, Théophraste, ou encore les auteurs hippiatriques, vétérinaires spécialisés dans les soins donnés aux chevaux. Différents termes sont employés pour désigner ces animaux, comme *ēlminç* qui désigne indistinctement un vers parasitant un humain ou un autre animal et que l'on retrouve par exemple chez Hippocrate (HIPPOCRATE, *Les épidémies*, IV, 16 et VI, 117) et Oribase (*Œuvres*, VIII, 24 et 33), (Moulé, 1911). Cet usage recoupe donc sensiblement l'usage courant et actuel du terme helminthe, qui n'a cependant pas de valeur taxonomique. Ces auteurs distinguent en outre trois sortes de vers intestinaux. On trouve ainsi les vers plats : le vers mentionné, *helminthe*, est accompagné de l'épithète *plateia*, et Galien précise que de tels vers sont aussi appelés *Tainiai*, qui renvoient à des bandes ou bandelettes (GALIEN, *Claudii Galeni Opera quae extant*, XIV). On trouve aussi les vers ronds (HIPPOCRATE, *Des maladies*, 4, 54), et les *Ascarides* (ARISTOTE, *Histoire des animaux*, V, 17,4), (Moulé, 1911).

Les vers plats, dont Aristote (*Ibid*) précise qu'ils s'attachent à l'intestin, renvoient sensiblement aux cestodes, sans qu'il ne soit possible de distinguer différentes espèces, comme les *Taénias* du porc ou du bœuf (*Taenia solium* et *Taenia saginata*), ou le *Bothriocéphale* du poisson d'eau douce (*Diphyllobothrium latum*). L'observation par Aristote de formes semblables à des graines de courges et expulsées avec les selles, ou détachées d'un vers dépassant du rectum d'un patient vraisemblablement parasité, ne laisse aucun doute quant à l'identification des cucurbitains de cestodes, formes de dissémination de ces vers et contenant des milliers d'œufs microscopiques.

Les vers ronds (*helminthes stroggulai*), qu'Hippocrate (HIPPOCRATE, *Des maladies*, 4, 54) décrit notamment expulsés dans les selles des patients infestés, renvoient immanquablement au nématode parasitant l'intestin grêle, *Ascaris lumbricoides*. Ces vers de section effectivement ronde, peuvent mesurer de 30 à 40 cm de long et sont donc parfaitement identifiables à l'œil nu. Il faut dès lors distinguer ces vers de ceux qu'Aristote appelle les *Ascarides*, sans toutefois les décrire de manière explicite (ARISTOTE, *Histoire des animaux*, V, 17,4). Hippocrate et Oribase mentionnent à ce propos des vers stationnant aux environs de la marge anale et du vagin de patientes infestées (HIPPOCRATE, *Les épidémies*, II, 1, 3 et *Œuvres*, VIII, 33). Ces vers, de petites dimensions et dont l'activité nocturne est décrite comme particulièrement désagréable correspondent en tout point à *Enterobius vermicularis* (Moulé, 1911). Ce nématode, comme sa classification actuelle l'indique, est également un vers rond, mais ce trait morphologique a semble-t-il été moins frappant pour ces auteurs anciens, comparé au très imposant *Ascaris* décrit plus haut. Les auteurs grecs mentionnent également des parasites intestinaux chez les animaux non-humains, notamment le cheval. Il est ainsi possible d'identifier, d'après leur description, des vers ronds comme *Oxyuris equi* et *Parascaris equorum*, ainsi que des vers plats appartenant vraisemblablement à la famille des *Anoplocephalidae* (Moulé, 1911 ; Hoeppli, 1956 ; Sandison, 1967 ; Meana *et al.*, 2002).

Outre les cucurbitains précédemment cités, les Grecs ont également observé les manifestations secondaires de la présence de vers parasites. Ainsi, Galien rapporte la présence, chez les humains et chez d'autres animaux, de tumeurs aqueuses de localisation

hépatique ou pulmonaire, que l'on peut identifier avec confiance comme des kystes hydatiques dus à l'échinococcose (GALIEN, *Claudii Galeni Opera quae extant*, XIV). De même, l'enkystement des larves du cestode *Taenia solium* dans la langue de porcs infestés avait bien été remarqué par Aristote, bien que ce dernier ne fasse pas de lien avec la présence de vers adultes (ARISTOTE, *Histoire des animaux*, VIII, 21). Cette cysticerose est également connue par Hippocrate (*Les épidémies*, IV, 10) Rufus d'Ephèse (RUFUS, *Œuvres*, 10), et Oribase (*Œuvres*, IV., I). Ces kystes ont par ailleurs été décrits par Hippocrate sur la langue d'une patiente vraisemblablement infestée, et semble constituer le seul témoignage historique connu de cysticerose humaine pour ce large contexte gréco-romain (HIPPOCRATE, *Les épidémies*, IV, 10).

Les auteurs d'expression latine n'ont pas été moins prolifiques. En effet, Dufour (2015) relève qu'en plus d'avoir traduit les expressions préalablement employées par les auteurs grecs, ils en ont par ailleurs ajouté un certain nombre, puisque l'on ne compte pas moins de vingt-quatre expressions latines désignant de tels parasites, contre sept expressions grecques. On trouve ainsi diversement employés les termes d'*animalia intestinorum*, *animalia interaneorum*, *coluber*, *coffi*, *vermes*, *tineas rotundas* ainsi qu'une variété de termes désignant spécifiquement les vers plats : *taenia*, *tenia*, *tinea*, *tineola*, *tiniola*. Le principe de base persiste en latin, à savoir l'appellation générale des vers infestant aussi bien les humains que les autres animaux (*lumbrici*), et l'ajout d'une épithète permettant de distinguer différents types morphologiques. On trouve ainsi les *lumbrici rotundi* ou *lumbrici teretes* désignant les vers ronds, ou les *lumbrici lati* désignant les vers plats. À nouveau, *Ascarides* ne sert pas à désigner l'*Ascaris* que nous connaissons actuellement, mais un autre vers rond, *Enterobius vermicularis* et déjà reconnu chez les auteurs grecs grâce à ses manifestations particulières. Par ailleurs, les mêmes incertitudes persistent que chez les auteurs grecs concernant la reconnaissance exacte de différentes espèces de vers plats des familles de *Taeniidae* et des *Diphyllobothriidae*.

Les vers de ces deux familles ne sont cependant pas les seuls pour lesquels une grande incertitude plane sur leur identification exacte. On trouve en effet chez le médecin d'époque romaine tardive (5^{ème} siècle de notre ère), Caelius Aurelianus, la mention de *lumbrici albi* et *lumbrici sanguinolenti* (CAELIUS AURELIANUS, *Traité des maladies chroniques*, IV, 8, 108). La mention de vers blancs peut être approchée de la plupart des espèces évoquées précédemment, qui, quelle que soit leur attribution taxonomique, varient généralement à l'état adulte d'une coloration blanchâtre à rosée. L'interprétation de vers sanguinolents ne pose pas moins d'incertitudes. Faut-il effectivement y interpréter la description de signes pathologiques résultant de l'infestation de certains vers, comme les diarrhées sanglantes associées à la trichocéphalose ? Rien n'est moins sûr.

Comme chez les auteurs grecs, les auteurs de langue latine ont semble-t-il identifié certains parasites animaux non-humains, notamment *Toxocara vitulorum* chez le veau (Roncalli, 2001). Comme rapporté par Dufour (2015), le statut de *Parascaris equorum* est quant à lui plus incertain. Bien qu'identifié par Moulé (1911) et Roncalli (2001), Penso (1981) a proposé d'y voir dans les mentions qui en sont faites par Végèce et Columelle la description de larves de mouches de l'espèce *Gastrophilus haemorrhoidalis* vivant sur le rectum d'équidés (VEGECE, I, 52 et COLUMELLE, *De l'agriculture*, VI, 30). Dufour (2015), notant cependant que Moulé (1911) identifie *P. equorum* mentionné par Chiron (III, 4 et V, 6-7 et 19) penche pour une connaissance effective de ce parasite, y compris chez les auteurs romains.

En somme, les auteurs d'époque gréco-romaine, depuis Hippocrate au 5^e siècle avant notre ère, jusqu'à Caelius Aurelianus au 5^{ème} siècle de notre ère, semblent avoir possédé une connaissance certaine des parasites gastrointestinaux infestant les humains aussi bien que d'autres animaux. Quelle que soit la langue d'expression de ces auteurs, l'identification de certains vers parasites notamment de l'intestin grêle et du rectum reste constante, tels *Ascaris lumbricoides*, dont la taille explique facilement son observation, et *Enterobius vermicularis* dont le comportement nocturne et les démangeaisons engendrées chez les patients infestés ne laissent à nouveau que peu de doute quant à son identification. Notons d'emblée que ces deux parasitoses sont caractéristiques d'une situation de péril fécal en situation de forte densité de population. Chez les auteurs grecs, comme chez les auteurs latins, l'observation de vers plats est également indéniable, sans qu'il ne soit cependant possible de distinguer clairement différentes espèces appartenant aux familles de cestodes des *Taeniidae* et des *Diphyllobothriidae*. Concernant ces dernières cependant, l'observation de manifestations pathologiques associées à différentes espèces de vers plats, notamment la ladrerie du porc ou des kystes hydatiques, permettent d'attester sans aucun doute la présence de *Taenia solium* ou d'*Echinococcus* sp. Contrairement aux parasitoses préalablement citées, les ténias exploitent typiquement les réseaux trophiques pour leur transmission, et sont donc chez l'humain des infestations d'origine alimentaire. En effet, alors que les ténias du porc et du bœuf sont transmises à l'hôte humain par l'ingestion de la viande trop peu cuite de l'un de ces deux animaux, la bothriocéphalose est quant à elle transmise par la consommation de chair de poisson peu ou insuffisamment cuite. Enfin, certains parasites semblent bien établis chez les animaux non-humains, tel *Parascaris equorum*.

Il est par ailleurs raisonnable de penser que les connaissances parasitologiques de l'époque dépassaient ces mentions directes de vers gastrointestinaux, dont on peut deviner que beaucoup sont issues d'observations fortuites lors de l'expulsion de tout ou partie des vers adultes par leur hôte. Mais nous pouvons aussi supposer que des observations plus précises ont eu lieu sans que leurs témoignages ne nous soient parvenus, et ce à la faveur de conditions particulièrement favorables, comme ce fut le cas semble-t-il de la pratique médicale alexandrine dans la première moitié du 2^{ème} siècle avant notre ère. Là, les médecins de renom tels Hérophile et Erasistrate purent couramment pratiquer les vivisections humaines (notamment sur des condamnés à mort) (Lloyd, 1993). Au regard des distinctions précises de tissus produites à cette époque par ces médecins, des descriptions détaillées, notamment du système digestif *in vivo*, et en particulier du duodénum dont Hérophile donne la première description anatomique connue (mentionné par GALIEN, *Sur la dissection des artères et des veines*, I), il est peu probable que ces praticiens n'aient pas également observé les parasites visibles à l'œil nu et vivant dans les organes qu'ils ouvraient minutieusement. La pratique de la vivisection, par la suite abandonnée aussi bien par les praticiens païens la jugeant peu utile que par les chrétiens la jugeant immorale, pourrait ne pas avoir favorisé la transmission jusqu'à nous de ce type d'observations.

Les données paléoparasitologiques

Les données paléoparasitologiques concernant le pourtour méditerranéen ne sont pas rares, en particulier concernant une large époque gréco-romaine constituant l'essentiel du corpus de cette région. Cette période n'est cependant pas la seule représentée, et il est possible de citer à titre d'exemples les observations aux datations les plus anciennes en nous limitant à l'Holocène et qui concernent les sites de Shillourokambos et de Khirokitia à Chypre (datés respectivement des 9^{ème} et 5^{ème} millénaires avant notre ère, Harter, 2003), Çatalhöyük en

Turquie (7^{ème} millénaire avant notre ère, Ledger *et al.*, 2019) ou encore le site de La Draga en Espagne (6^{ème} – 5^{ème} millénaires avant notre ère, Maicher *et al.*, 2017).

En nous limitant à la période chronologique couverte par les données historiques mentionnées précédemment (5^{ème} siècle avant notre ère – 5^{ème} siècle de notre ère), et au pourtour méditerranéen il est possible de répertorier les sites distribués dans plusieurs pays. On trouve ainsi en France les sites de Mikelaen-Zilo (Le Bailly et Bouchet, 2013), Lattes (Jouy-Avantin et Moné, 2003), Villevieille, Castillon du Gard, Mougins, Marseille (Dufour, 2015), Mare Stagno (observations de l'auteur). En Italie, on trouve les sites de la Galerie des Offices à Florence (Roche *et al.*, 2019, 2020b), du port d'Ostie (Dufour, 2015), de Pompéi (Dubbin, 2003 ; Love, 2007), de Parme (Bosi *et al.*, 2011). La Turquie a livré les sites de Sagalassos (Williams *et al.*, 2017), d'Ephèse (Ledger *et al.*, 2018), et de Labraunda (observations de l'auteur). On peut noter en Israël les sites de la vallée de Nahal Mishmar (Witenberg, 1961), Qumran (Harter, 2003 ; Zias *et al.*, 2006), Caesaria, Beit Shean (Harter, 2003) Jérusalem (Zias et Mumcuoglu, 1991). L'Égypte et le nord-Soudan ont été particulièrement étudiés. On y relève respectivement les sites d'Akhmim (Cockburn *et al.*, 1975), Alexandrie (Dufour, 2015), Hawara (Isherwood *et al.*, 1979), Kellis (Horne, 2002), Deir el Medineh, Saqqarah (Harter, 2003), El-Deir (Le Bailly *et al.*, 2010) ; ainsi qu'au nord-Soudan le long de la vallée du Nil les sites de l'île de Saï, Sedeinga, (Harter, 2003), ainsi que du cimetière de Wadi Halfa (Miller *et al.*, 1992, Hibbs *et al.*, 2011) étudié en étroite relation avec les cimetières légèrement plus tardifs R et S de Kulubnarti (Hibbs *et al.*, 2011). *A contrario*, le Maghreb a été très peu étudié, avec pour seule mention à notre connaissance le site d'Utique en Tunisie (observation de l'auteur). En Espagne il est possible de répertorier les sites de Merida (Sianto *et al.*, 2015), Baelo Claudia et Pollentia (observations de l'auteur).

La Grèce en elle-même a fourni un petit nombre de sites recouvrant cette époque, à savoir Ayia Irini (Anastasiou *et al.*, 2018), Kardamaina (observations de l'auteur), et Asi Gonia (Roche *et al.*, 2020a). A ceux-ci s'ajoute évidemment le site de Délos dont il est ici question. Peu d'autres sites ont à ce jour livré des résultats en Grèce et qui, en élargissant la période considérée, permettraient d'inclure plus de données pour cette région, comme les sites de Kephala (Anastasiou *et al.*, 2018), datant du 5^e millénaire avant notre ère, ou le site de Kouphovouno datant des 6^e au 3^e millénaires avant notre ère (Le Bailly et Bouchet, 2006).

A cette revue de la littérature qui ne concerne que la détection d'helminthes (à l'exception de Kouphovouno), il convient de mentionner les sites ayant fait l'objet de la détection de protozoaires sanguins ou intestinaux, notamment l'agent du paludisme sur les sites italiens de Velia, Vagnari (Marciniak *et al.*, 2016) et Lugano (Sallares et Gomzi, 2001), du paludisme et de la toxoplasmose en Égypte (Lalremruata, *et al.*, 2013 ; Khairat *et al.*, 2013), de la giardase en Turquie (Williams *et al.*, 2017), et de l'amibiase dysentérique à Lattes (Le Bailly et Bouchet, 2006), Castillon du Gard (Gonçalves *et al.*, 2004), ainsi qu'à Rome (Le Bailly et Bouchet, 2015).

Enfin, il est nécessaire de souligner qu'un certain nombre d'arthropodes ectoparasites ont également été détectés dans l'aire chrono-géographique ici considérée (Capasso *et al.*, 1998 ; Mumcuoglu *et al.*, 2003 ; Palma, 1991 ; Mumcuoglu *et al.*, 1988 ; Mumcuoglu, 2008 ; Otranto *et al.*, 2014 ; Huchet *et al.*, 2013 ; Matheson *et al.*, 2009), ainsi que des pathogènes bactériens (Donoghue *et al.*, 2005 ; Monot *et al.*, 2009 ; Spigelman et Donoghue, 2001). On peut relever ici à titre d'exemple la détection de l'agent de la salmonellose *Salmonella*

enterica typhi chez des individus exhumés à Kerameikos à Athènes et datés du 5^{ème} siècle avant notre ère (Papagrigorakis *et al.*, 2008).

Hygiène, santé et salubrité dans le monde gréco-romain

L'intégration des données déliennes aux sources historiques ainsi qu'aux autres données paléoparasitologiques permet de mieux appréhender le fardeau parasitaire connu dans une cité gréco-romaine et d'interroger notamment l'efficacité des systèmes d'adduction d'eau, de latrines et d'égouts caractérisant les centres urbains de cette aire chrono-culturelle. Cette problématique s'intègre dans un débat au long cours à l'intersection des données historiques et archéologiques (Scobie, 1986; Antoniou and Angelakis, 2015 ; Koloski-Ostrow, 2015). Ces dernières indiquent au minimum que le développement des infrastructures d'hygiène a pu être très variable au travers du monde gréco-romain, et ne serait-ce que dans une même cité : toutes les habitations disposent-elles de latrines ? Toutes ces latrines sont-elles reliées à un réseau d'égouts commun ? Ou doivent-elles être régulièrement vidées ? Permettent-elles effectivement d'isoler les lieux d'aisance des autres lieux de vie quotidienne, comme la cuisine ? Ces installations, si efficaces dans la limitation des infestations d'origine fécale, étaient-elles soutenues par une connaissance approfondie des processus d'infestation ?

En dehors de mentions textuelles concernant les détritiques et la gestion des déchets dans ce contexte historique, les nombreuses mentions de parasites gastrointestinaux évoquées précédemment (Dufour, 2015) par les auteurs anciens grecs et romains, indiquent une certaine persistance de la pollution ayant permis l'infestation par ces parasites. De surcroît, les cycles biologiques de ces parasites, impliquant la plupart du temps leur passage dans le milieu extérieur et exposé à la lumière du soleil (comme le réservoir tellurique), accréditent l'idée d'une pollution largement répandue par la matière fécale, notamment des espaces de circulation, mais aussi certainement la pollution de l'eau de boisson et/ou de la nourriture (comme des végétaux souillés).

Les nombreuses données paléoparasitologiques du pourtour méditerranéen à l'époque gréco-romaine et mentionnées *supra* étayaient ce constat : de manière quasi systématique, les parasitoses typiques du péril fécal sont observées. Ce constat peut être étendu à l'ensemble du monde romain (Mitchell, 2015a). Il a pu être allégué que ces observations faisaient fi des données épidémiologiques actuelles, montrant la baisse systématique des infestations parasitaires dans les communautés où des latrines étaient nouvellement installées en remplacement de la défécation à l'air libre (Mulder, 2017). Par ailleurs, ce type de systèmes répandus à la faveur de la romanisation, devaient dans le passé avoir notablement contribué à l'abaissement de ces infestations, d'autant plus qu'ils étaient portés par une grande culture hygiénique et médicale portant notamment une attention particulière à la propreté de l'eau de consommation et à sa séparation d'avec les eaux souillées (Mulder, 2017).

S'il est vrai, en suivant Mirko Grmek (1991), que la pensée médicale grecque, hygiéniste, naturaliste et empirique, s'est distancée de la pensée magique et sacrée dans l'explication de l'émergence des maladies, elle n'en demeure pas moins pré-scientifique. En l'absence de toute compréhension moderne des cycles biologiques de la transmission des maladies, de la théorie des germes, de l'évolution et de l'immunité, toute tentative de conserver une eau de boisson propre ne semblerait avoir eu des effets bénéfiques contre la transmission des maladies d'origine fécale que par chance, au mieux. La distinction entre eau claire et eau polluée, trouvée notamment chez Frontin, a moins été motivée par la volonté de lutter contre

le fardeau infectieux, que pour des considérations gustatives et comme participant à la qualité de l'air aux abords des canalisations transportant cette eau (Morley, 2005). Par ailleurs et pour avoir un effet bénéfique net, de telles précautions, même involontaires, devraient être mises en place dans un milieu contrôlant par ailleurs toutes les autres sources de pollution fécale et d'infestation, comme la fertilisation des cultures avec des excréments humains. Or, c'est là une pratique connue dans le monde romain (Mitchell, 2015), rendant pour la moins optimiste la vision d'une romanisation source d'améliorations sanitaires et d'abaissement du fardeau infectieux.

L'antagonisme entre la mise en place de structures apparemment propices à l'abaissement du fardeau parasitaire et la persistance de pratiques contraires peut être illustré par l'exemple de la lettre 70 de Sénèque à Lucillus. Sénèque y évoque la présence d'un manche au bout duquel se trouve une éponge, et qui semble être à disposition dans des latrines collectives pour l'hygiène personnelle. Il est permis de penser que l'utilisation d'un tel objet, plutôt que rien du tout, apporte un certain confort en ce contexte. Mais loin d'être une mesure de distanciation effective en évitant le contact entre les excréments et la main, il est le vaisseau parfait pour la transmission directe d'hôte à hôte d'une parasitose comme l'entérobiose, dès lors qu'il serait effectivement à usage collectif, fut-il rincé à l'eau entre deux utilisations. En somme et pour reprendre les termes de Scheidel (2009) sur une problématique proche, les données historiques et archéologiques tendraient à illustrer un jeu à somme nulle plutôt qu'un bénéfice net des pratiques d'hygiène personnelles et collectives sur l'abaissement du fardeau infectieux dans les communautés urbaines du monde gréco-romain. Les latrines pompéiennes, souvent placées dans la cuisine de l'habitation (Koloski-Ostrow, 2015), sont une autre illustration de cette ambivalence du rapport à l'hygiène dans le monde romain par rapport à l'idée que nous pouvons nous en faire actuellement et notamment basée sur la connaissance effective du péril microbien.

Loin d'ignorer les données actuelles de l'épidémiologie parasitaire (Mitchell, 2015b), il convient donc ici de replacer ces observations dans un contexte pertinent, prenant en compte tous les types de données à disposition : textuelles, artéfactuelles, biologiques, anciennes et modernes.

Afin d'explorer l'idée selon laquelle le développement de systèmes d'égouts et de latrines au cours de la romanisation, et trouvant un raffinement et une systématisation particulièrement frappants à Délos, serait nécessairement associée une amélioration de la situation sanitaire relative aux infestations d'origine fécale, il est également possible d'interroger les données bioanthropologiques et paléopathologiques. Or, cette idée est difficilement soutenable face au phénomène de pénalité urbaine décrit par les anthropologues, depuis l'émergence des premiers centres urbains jusqu'à l'époque contemporaine, et particulièrement prononcée à l'époque romaine (Meinzer *et al.*, 2018). Cette pénalité sanitaire, qui voit les populations de centres urbains en plus mauvaise santé que leurs contemporains ruraux, trouve de nombreuses illustrations et montre un abaissement notable des conditions de vie de ces populations au cours du temps au gré de la romanisation (Nikita *et al.*, 2016 ; Lewis, 2010; Lagia, 2014; 2015; Redfern and DeWitte, 2011). Bien que cela ne puisse pas être démontré formellement à l'aune des données paléoparasitologiques actuelles, il est notable que les parasites ici considérés, par leurs actions de spoliation et de favoritisme d'autres infections microparasitaires (des bactéries par exemple), ont pu être de parfaits leviers aux effets de la sous nutrition, notamment les anémies, retards développementaux et stress carenciels interprétés en termes de pénalité urbaine. Si l'historiographie a certainement tendance à faire

la part belle aux grandes épidémies de l'histoire, il est notable de faire le constat à la suite de Mirko Grmek (1991), que les maladies endémiques (typiquement, les parasites dont nous parlons ici) ont certainement eu un effet délétère au moins aussi important que les épidémies sur les sociétés anciennes de par leur distribution massive et l'impossibilité de les traiter efficacement et durablement.

Le cas de Délos

A ce tableau général des infestations parasitaires largement répandues dans le monde gréco-romain, le cas de Délos apporte l'exemple original de sa distribution à l'intérieur d'un même centre urbain. En effet, les études paléoparasitologiques tendent généralement à ne porter que sur un échantillonnage restreint du site étudié, et ainsi, à n'attester au mieux que de la présence des parasites observés dans la communauté plutôt qu'à leur distribution. A notre connaissance, l'étude exhaustive des latrines de Délos est un cas original dans ce contexte (bien que d'autres études exhaustives aient pu être faites en d'autres situations, voir par exemple Maicher *et al.*, 2017 ou Hibbs *et al.*, 2011). Notons au passage que cette étude systématique a été possible sur un site anciennement fouillé, avec les contraintes taphonomiques que cela peut induire. Une telle approche gagnera certainement à être systématisée à l'avenir sur des sites en cours de fouille.

Or, si le nombre de spécimens observé peut fortement varier d'un échantillon à l'autre, ceux-ci n'en sont pas moins distribués dans l'ensemble des quartiers d'habitation. Il n'est pas possible d'affirmer que la surreprésentation de certains taxons dans certaines latrines soit à mettre sur le compte d'une emprise plus importante du parasitisme chez les habitants du secteur concerné. Ainsi, il faut noter que l'échantillon provenant des latrines de la maison 6 F du quartier du théâtre, et ayant livré plusieurs centaines de spécimens, a été prélevé immédiatement à la sortie de sa conduite d'évacuation côté rue, et à l'époque située sous le niveau de circulation de cette dernière. Cette évacuation déverse son contenu dans l'égout dévalant la rue du théâtre, auquel se raccorde en amont de celle-ci un certain nombre d'autres latrines (Desruelles, 2006). Ainsi, il est possible de penser que les reflux de l'égout de la rue, à la jonction de la conduite d'évacuation de la maison 6 F, a favorisé l'accumulation de matière fécale, et *a fortiori* l'observation de spécimens parasitaires.

Il en va de même pour les parasites n'ayant fait l'objet que d'une unique observation. La détection de l'agent de l'entérobiose, *E. vermicularis*, au contact des latrines du Sanctuaire, n'est pas à mettre sur le compte d'une présence hyper localisée de cette parasitose à l'époque romaine. Cette parasitose est effectivement typique d'une importante densité de population, et classiquement observée touchant tous les membres d'une même famille, ou les occupants d'une école ou autre lieu de vie collective (Roberts et Janovy, 2008). Ses œufs, extrêmement légers, peuvent être transportés par les courants d'air dans une même habitation et favoriser une transmission aérienne. De fait, ces œufs sont très sensibles à la dessiccation et ne survivent que quelques heures dans le milieu extérieur. Ce dernier point peut expliquer la rareté de la détection d'œufs d'*E. vermicularis*, particulièrement fragiles et sensibles aux contraintes diagénétiques. Il faut en effet rappeler que ce taxon n'a pas été détecté sous microscope, mais par extraction d'ADN dans l'une des quatre structures ayant fait l'objet de telles analyses.

La douve du foie, *Fasciola* sp., probablement *F. hepatica*, n'a également fait l'objet que d'une seule observation (microscopique celle-ci), dans les latrines collectives de

l'établissement des Poséidonistes de Berytos. Du fait de l'indisponibilité du matériel, des analyses moléculaires n'ont pas pu être pratiquées afin de confirmer ou non la présence d'ADN de *Fasciola* dans cet échantillon. S'agit-il d'une vraie infestation humaine par ce parasite d'origine animale ? D'une fausse infestation due à l'ingestion de nourriture souillée d'excréments animaux, ou de déchets d'origine animale jetés dans ces latrines ? Vraie ou fausse infestation humaine, cette observation signe-t-elle la présence de cette parasitose sur l'île ou a-t-elle été apportée par l'un des nombreux navigateurs extérieurs et fréquentant l'établissement de la corporation pendant la période de navigation en Méditerranée (Rougé, 1975) ? En l'absence d'autres observations, aucune certitude n'est permise, mais il est notable de constater que ce parasite bel et bien transmissible aux humains ne représente pas une anomalie en l'état, et que ses hôtes animaux habituels, ovins et bovins, sont bien attestés dans le registre archéozoologique de l'île.

La distribution des œufs de type Strongyle est plus équivoque en raison de leur faible spécificité morphométrique, les taxons ici considérés n'ayant pas fait l'objet de recherches d'ADN. Tout au plus est-il possible de constater que ceux-ci s'observent également dans tous les quartiers de la ville, comme l'*Ascaris* et le *Trichuris*, bien qu'en faible nombre, et que les plus petits spécimens pourraient appartenir au genre *Strongyloides*, notamment *S. stercoralis*, touchant les humains. Une grande variation de taille a cependant été observée dans l'assemblage, dénotant la présence de plusieurs taxons, dont les plus grands spécimens (de l'ordre de 107 x 58 µm pour 5 œufs mesurés à Fourni), ne pouvant appartenir à l'espèce *S. stercoralis* ou à des espèces proches, tendent à être observés dans la fosse de vidange de la maison de Fourni. Ces spécimens, appartenant certainement à une ou plusieurs espèces de la famille des *Trichostrongylidae* qui touche particulièrement les ruminants et qui n'ont pas été observés en présence de parasites humains dans cette structure particulière, pourraient être mis en relation avec la position excentrée et les activités pratiquées autour de cette ferme localisée en dehors de la zone urbaine au nord de la baie de Fourni. Les parasitoses de cette famille, par ailleurs transmissibles aux humains, pourraient illustrer une certaine localisation des cycles parasitaires, distinguant les espaces et les activités humaines associées, urbaines d'une part, et agraires d'autre part.

En somme, la distribution des parasites dans les échantillons déliens dénote un état certain de péril fécal largement répandu dans sa zone urbaine, et pour sûr fortement sous-évaluée du fait des biais taphonomiques. En effet, si des œufs de parasites ont parfois été observés seuls, ou par groupe de quelques unités dans un même échantillon, il ne faut pas oublier que ceux-ci sont produits par milliers voire par centaines de milliers chaque jour par chaque femelle, et qu'une personne peut être infestée par plusieurs dizaines voire centaines de vers adultes (Roberts et Janovy, 2008). Dès lors, la rareté des observations dénote moins la rareté des parasites que la forte dilution et dégradation des spécimens dans les sédiments archéologiques. De la même façon, rien ne peut être dit des taxons qui n'ont pu être observés par l'une ou l'autre des méthodes diagnostiques employées, sinon que leurs traces n'ont pu être détectées dans les échantillons étudiés.

Comme à l'échelle globale vue précédemment, le constat de l'omniprésence de ce péril fécal à l'échelle locale du centre urbain, ici à Délos, paraît contre intuitif à l'idée d'une société au sens de l'hygiène si développé. Là encore, il convient de prendre en compte tous les éléments à disposition. Parmi ceux-ci, on peut noter l'étendue des terrasses de culture antiques, marquant encore à l'heure actuelle le paysage du sud de l'île. Sans que cela ne soit formellement démontrable en l'état, il est possible que la pratique conjuguée de l'irrigation et

de l'amendement des cultures avec des excréments humains ou d'autres animaux ait favorisé la transmission de parasites autrement voués à s'écouler dans les égouts dans la ville. Mais cet écoulement à lui seul serait-il vraiment idéal ? A en juger par l'état actuellement connu de ce système d'égouts urbains, il semble que les déchets aient été évacués vers la mer, notamment aux alentours de la baie de Skardana. Dès lors, il est fort probable que la stagnation des résidus ainsi que les courants marins venus du nord aient favorisé l'infestation des habitants lors d'activités de baignade ou incluant le contact avec l'eau de mer aux abords du rivage. Certains œufs de parasites peuvent effectivement rester viables exposés à de telles conditions (Stien et Schartzbrod, 1990 ; Zamo *et al.*, 2003).

À nouveau, les sources textuelles peuvent éclairer la situation. Les données épigraphiques déliennes laissent apercevoir l'ampleur du problème de la pollution fécale à Délos. Le texte le plus fameux en cela reste La Chronique du *Serapieion*, qui relate l'histoire de la construction du plus ancien temple délien du dieu égyptien (Sérapis) sur un terrain vague inoccupé, vraisemblablement un « endroit couvert d'ordures » (IG XI, 4, 1299). Il ne nous appartient pas de discuter de l'aspect philologique et historique de ces données, mais il semble bien attesté qu'en dépit de la portée tout à fait aréalogique de ce texte précis qui reprend une structure narrative commune au récit de certains mythes de fondations de temples égyptiens destiné à flatter la consécration du lieu, les rues, places et monuments déliens aient bien été sujets au déversement d'ordures. Quatre textes (IG XI 2, 146. A, 76-77 ; IG XI 2, 203, A, 38 ; IG XI 2, 228, 3 ; Règlement de 202 publié par Ph. Bruneau, CDH, p. 305) sont en outre connus à Délos pour relater le problème des *koproï* (en dehors de l'utilisation de ce terme pour dire « guano »). Il ne faut cependant pas éluder que si le sens premier de *kopros* semble bien être celui de la matière excrémentielle, il est également utilisé pour dire les « ordures » et les « immondices » en général. Or, une loi promulguée en 202 av. J.-C., interdit que l'on jette de tels déchets aux abords du sanctuaire d'Apollon, adjacent du futur quartier de Skardana, et même jusque sur l'autel de Dionysos. Ce problème de salubrité publique semble avoir été suffisamment important et nuisible pour donner lieu à une législation. Faut-il cependant imaginer les rues déliennes jonchées d'excréments ? En accord avec Philippe Bruneau, il ne semble permis de voir là que des « demies réalités », qu'il s'agisse de mythes de fondations ou de fautes religieuses particulièrement graves et exigeant des dispositions juridiques (Bruneau, 1973). Néanmoins, les parasites ici détectés de manière démonstrative exigent bien leur dissémination dans le sol pour une durée de plusieurs semaines, notamment dans le cas de l'*Ascaris* et du *Trichuris*. La dissémination d'excréments en première instance, mais aussi leur ruissellement à la faveur des pluies hivernales sur un sol par ailleurs certainement plus humique qu'il ne l'est actuellement du fait de cultures d'appoint éventuellement pratiquées dans les rues (Bruneau *et al.*, 2005) expliqueraient aisément le maintien du réservoir tellurique de ces parasites. Par ailleurs, il semble fort peu probable que la situation se soit arrangée à partir de la perte de l'indépendance des Déliens au profit d'Athènes et de Rome, qui a vu l'intensification de la croissance urbaine (notamment l'émergence du quartier de Skardana), certes à l'origine de nouveaux réseaux d'égouts, mais aussi inévitablement d'une certaine densification de la population et *a fortiori* de la production d'immondices dans un espace toujours restreint.

Le registre bioanthropologique délien est en revanche moins loquace. La plupart des sépultures connues de Délos proviennent de la nécropole hellénistique de Kato Generale sur l'île voisine de Rhénée où étaient pratiquées les inhumations des habitants défunts depuis le 5^{ème} siècle avant notre ère pour le moins (Clère et Le Dinahet, 1994). L'analyse des restes osseux par le Docteur Clère, faite sur un nombre restreint de sujets par ailleurs fort mal

conservés, n'a révélé aucune condition pathologique remarquable autre que des lésions arthritiques et carieuses. Sur la base des données publiées de cette étude, rien ne permet de relier les lésions osseuses observées au parasitisme détecté (comme des retards de croissance, stress carenciels, ou lithiases hépatiques), ni à d'autres infestations parasitaires (hydatidose, schistosomiase urinaire, ou des signes d'hyperostose spongieuse) ou infections bactériennes favorisant et aggravant le parasitisme détecté (comme la tuberculose).

Conclusion

L'étude paléoparasitologique des latrines de Délos est originale de par son exhaustivité. L'intégration de l'approche classique de la discipline en microscopie optique à la paléogénétique a permis d'augmenter et de préciser le diagnostic paléoparasitologique, notamment en démontrant que les spécimens de type Ascaridé appartiennent très certainement au genre *Ascaris* sp., et que les spécimens de type *Trichocephalida* attribués au genre *Trichuris* sp., appartiennent bien au moins en partie à l'espèce *T. trichiura*, mais aussi en révélant la présence non détectée sous microscope de l'espèce *E. vermicularis*. Les parasites détectés, d'origine fécale et infestant essentiellement les humains mais également d'autres animaux comme les ruminants, témoignent de l'ubiquité du péril fécal à Délos à l'époque romaine.

Les données historiques, archéologiques, anthropologiques et paléoparasitologiques, tendent à montrer que le parasitisme, notamment par les parasites ici détectés comme *Ascaris* sp. et *E. vermicularis*, étaient bien connus des médecins, vétérinaires et agronomes de l'époque gréco-romaine, et que ce péril était certainement largement répandu et n'était pas propre à la ville de Délos. La situation délienne permet cependant d'illustrer l'emprise du fardeau parasitaire sur une ville antique de l'époque romaine, et montre qu'aucune zone d'habitation n'est vraisemblablement épargnée. Cette large distribution du parasitisme à l'échelle du centre urbain ne permet cependant pas d'approximer la prévalence réelle du parasitisme chez les déliens anciens, faute de pouvoir en étudier la population archéologique. Il est toutefois permis de penser que ces infestations étaient alors largement répandues dans la population.

Si Délos n'était sans doute pas un cas isolé du monde gréco-romain, ce dernier n'est probablement pas original non plus comparé à d'autres contextes chrono-géographiques. Dans son évaluation du péril infectieux, notamment fécal, des villes de Rome à l'époque antique et de Londres à l'époque moderne au regard de leurs systèmes d'égouts et de latrines respectifs, Taylor (2015) a montré que ces derniers étaient certainement impropres à atteindre des effets sanitaires nets, d'abord et avant tout car ils n'avaient jamais vraiment été pensés pour circonvenir un péril microbien alors largement ignoré, même dans le cas de Rome et de ses très nombreuses latrines publiques et privées. Cette situation a certainement perduré en Occident jusqu'à une époque très récente. Délos semble bien représentative de cela pour l'époque antique, ce que Joseph Chamonard avait déjà pressenti en son temps en notant la grande perméabilité du sol et le risque éventuel de contamination des eaux de boisson (Chamonard, 1924).

Chapitre 2 : Fardeau parasitaire et alimentation : étude de la nécropole de la Galerie des Offices, Florence.

Ce chapitre à fait l'objet de deux publications scientifiques :

-Roche, K., Capelli, N.; Pacciani, E.; Lelli, P.; Pallecchi, P.; Bianucci, R.; Le Bailly, M. Gastrointestinal Parasite Burden in 4th-5th c. CE Florence Highlighted by Microscopy and Paleogenetics. *Infection, Genetics and Evolution* **2021**, 90, 104713, doi:10.1016/j.meegid.2021.104713

-Roche, K., Pacciani, E.; Bianucci, R.; Le Bailly, M. Assessing the Parasitic Burden in a Late Antique Florentine Emergency Burial Site. *Korean J Parasitol* **2019**, 57, 587–593, doi:10.3347/kjp.2019.57.6.587

Introduction

Depuis 20 ans, relativement peu d'études en paléoparasitologie ont mis en œuvre des approches intégrées impliquant microscopie et ADN ancien comparé à d'autres domaines où la paléogénétique est couramment employée (Loreille *et al.*, 2001; Madden *et al.*, 2001 ; Iñiguez *et al.*, 2003, 2006 ; Aufderheide *et al.*, 2004, 2005 ; Zink *et al.*, 2006 ; Liu *et al.*, 2007 ; Nerlich *et al.*, 2008 ; Fernandez *et al.*, 2008 ; Leles *et al.*, 2008, 2014 ; Costa *et al.*, 2009 ; Botella *et al.*, 2010 ; Hawass *et al.*, 2010 ; Oh *et al.*, 2010 ; Khairat *et al.*, 2013 ; Lalremruata *et al.*, 2013 ; Shin *et al.*, 2013 ; Wood *et al.*, 2013 ; Ghul *et al.*, 2014 ; Matheson *et al.*, 2014 ; Myskova *et al.*, 2014, Panzer *et al.*, 2014 ; Novo *et al.*, 2015 ; Côté *et al.*, 2016 ; Gelabert *et al.*, 2016 ; Boast *et al.*, 2018 ; Flammer *et al.*, 2018; Sjøe *et al.*, 2015; 2018 ; van Drop *et al.*, 2019 ; Guedes *et al.*, 2020). Ces études ont récemment été passées en revue par Côté et Le Bailly (2017) et Wood (2018). Similairement, les contextes funéraires, qui pourraient autoriser une meilleure approximation de la dynamique ancienne des infections au sein des populations humaines au cours du temps, n'ont pas été étudiés de manière extensive en paléoparasitologie, comparativement au grand nombre d'assemblages bio-anthropologiques étudiés par ailleurs (Harter, 2003; Aufderheide *et al.*, 2004 ; Hibbs *et al.*, 2011; Jaeger *et al.*, 2014; Marciniak *et al.*, 2016; Anastasiou *et al.*, 2018; Roche *et al.*, 2019 ; Guedes *et al.*, 2020). Dans le présent chapitre, nous nous plaçons à l'intersection de ces deux points d'intérêt -l'approche intégrée et le contexte funéraire- par l'étude de 5 individus provenant des sépultures de masse de l'époque romaine tardive découvertes sur le site de la Galerie des Offices à Florence, Italie.

La cité antique de Florence (Florentia) en Italie centrale, a été fondée à la fin du 1^{er} siècle avant notre ère. Elle a prospéré durant le Haut Empire comme un pôle commercial sur la Via Cassia, l'une des routes principales vers Rome. Faste durant le 2^{ème} siècle, la ville décline à l'époque tardive jusqu'au début du 5^{ème} siècle lors de son siège par les Goths conduits par Radagaisus (De Marinis, 1996; Heather, 2006 ; Cardini, 2006 ; Cantini *et al.* 2007). L'armée des Goths fut cependant défaite en août 406 par le général romain Stilichon et ne put pénétrer dans la cité. Le siège eut cependant de lourdes conséquences pour la population de *Florentia* (Davidsohn, 1969). Les fouilles archéologiques ont notamment mis en évidence la destruction de l'aqueduc alimentant la ville à cette période, bien qu'il ne soit pas certain que cela soit directement lié au siège.

Des fouilles conduites entre 2008 et 2014 sous la Galerie des Offices à Florence ont conduit à la découverte d'une zone funéraire, dont 75 individus furent exhumés à ce jour. Certains défunts reposaient en sépulture individuelle, alors que d'autres étaient déposés en sépultures

collectives pouvant compter jusqu'à 14 individus. Les conditions taphonomiques tendaient à indiquer une utilisation d'urgence, de type sépulture de masse, mise en place en dehors des murs de la cité et possiblement liée à une épidémie d'étiologie encore inconnue (Pacciani *et al.*, 2018). Les examens bioanthropologiques et paléopathologiques sont encore en cours, mais les observations de terrain n'ont laissé entrevoir aucune trace de violences interpersonnelles. Des monnaies associées à certaines sépultures ont permis de dater la mise en place de cette zone funéraire aux alentours de la fin du 4^{ème} siècle et du début du 5^{ème} siècle. La nécropole, en dehors de la ville, était située dans une zone tampon entre cette dernière et le fleuve Arno, zone restée non urbanisée jusqu'au 13^{ème} siècle du fait des inondations fréquentes de l'Arno (Nicosia *et al.*, 2012).



Figure 19 Individus inhumés dans l'une des fosses (T8) des sépultures de masse découvertes sous la Galerie des Offices à Florence, Italie. La flèche pointe l'individu C (IND C), dont le membre inférieur gauche a été recoupé par le creusement d'un puits d'époque médiévale. L'échantillon de sédiment prélevé au niveau des lombaires a notamment livré la séquence de *D. dendriticum*.

Les sépultures de masse en elles mêmes ont montré des signes de perturbations postérieures. En effet, quasiment toutes les fosses étaient scellées et les individus déposés demeurés en connexion anatomique stricte lors de leur découverte (**Figure 19** et **Figure 20**), mais certaines de ces fosses ont néanmoins été recoupées par des structures plus tardives (probablement des puits) sans nécessairement perturber les défunts associés à ces fosses, à l'exception d'un seul.

Chaque type de perturbation a été testé dans le présent chapitre, à savoir des fosses sans aucune perturbation, des fosses recoupées sans perturbations des individus, et des fosses recoupées avec individu perturbé.

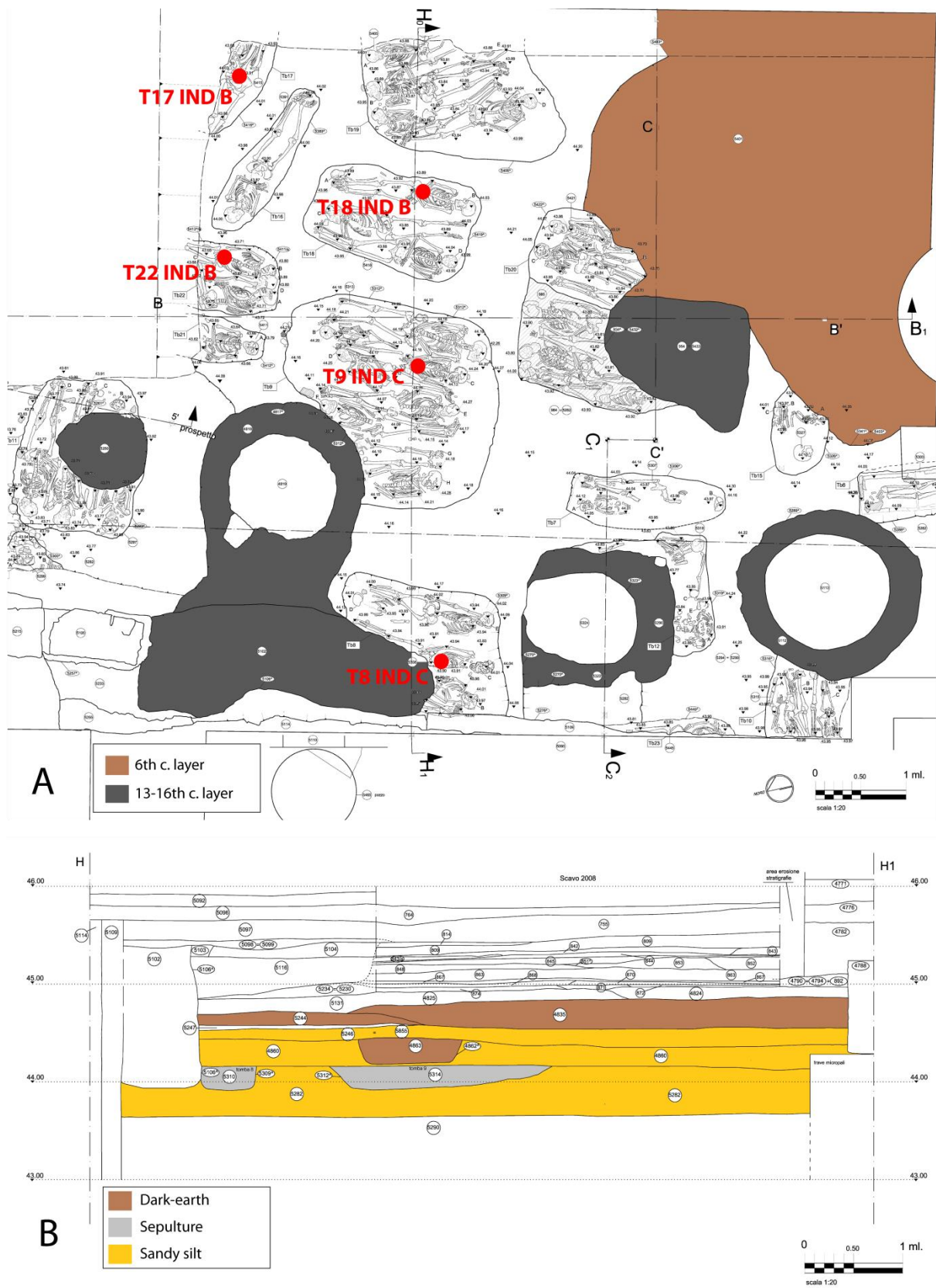


Figure 20 Localisation des différentes sépultures étudiées dans le cadre de ce chapitre. La fosse T8 et la fosse T9 ont été recoupées par des creusements d'époque médiévale.

Matériels et méthodes

Géologie et occupation du site étudié

La nécropole a été installée en bordure d'un promontoire s'étendant vers l'Arno, entre la rive droite du fleuve et un ancien lit à proximité de la plaine alluviale. Alors située en dehors de la partie urbaine, la zone funéraire était sujette à de fréquentes inondations ayant façonné la rive de dépôts de sables fins argilo-limoneux. Le sol concerné est donc constitué d'une alternance de sables argileux et de limon sableux reposant sur un substrat graveleux. Les sépultures découvertes étaient sises dans ce sol ne montrant par ailleurs pas traces de sols pâles, certainement exposés à l'air et comportant peu de végétation. Une prospection conduite en bordure de la nécropole indique que ce sol se poursuit au moins jusqu'à trois mètres de profondeur.

Les données stratigraphiques permettent donc d'affirmer que la nécropole a été mise en place dans un temps relativement court (Pallecchi, 2006; Arnoldus, 2007), ne montre pas de traces de fréquentation préalable, et a été sujette à des phénomènes d'érosion et de sédimentation en relation avec les variations saisonnières du cours du fleuve Arno aussi bien avant qu'après la mise en place de la zone funéraire.

A ce jour, l'extension maximale de la nécropole demeure inconnue mais il est certain que l'urbanisation du 13^{ème} siècle a conduit à la destruction d'une partie des fosses du Bas Empire. Après la fin de l'utilisation de la zone, durant une courte période, elle a donc de nouveau été soumise aux aléas du fleuve, jusqu'au Moyen-Âge. Durant cet intervalle cependant, tout le bord Sud-Est de la ville a fait l'objet de tentatives de remédiations, à partir du 6^{ème} et du 7^{ème} siècles, par la création d'une rive artificielle (Lelli, 2007 ; Lelli and Spezi, 2007 ; Scampoli, 2007). Au 12^{ème} siècle, cette rive a été rehaussée afin de gagner du terrain utilisé comme zone dépotoir et/ou agricole. Ces usages sont bien attestés par la découverte de couches de terres noires, notamment sous la bibliothèque Magliabechiana (Nicosoa *et al.*, 2012), ainsi que de fosses de décharge subcylindriques attribuables au 13^{ème} siècle (Lelli and Spezi, 2007).

Dans la zone sépulcrale en elle-même, certaines couches noires discontinues ont pu être observées au-dessus de certaines sépultures, interprétables comme les résidus organiques amassés dans les dépressions naturelles du sol et façonnés par l'action du fleuve et les fosses de décharge. Ces terres noires étaient plus ou moins profondes, parfois presque jointives des sépultures sous-jacentes (**Figure 20**). Il est possible de dire qu'elles se sont formées par l'accumulation superficielle, rapide et transitoire de déchets ménagers organiques à l'état solide, partiellement décomposés et sujets au lessivage et à l'évapo-transpiration. De fait, les infiltrations de ces dépôts dans le sédiment sous-jacent, peu perméable, semblent négligeables.

Cette zone encore rurale entre les 9^{ème} et 13^{ème} a vu une occupation très marquée à partir du 13^{ème} siècle alors que la ville est par ailleurs affectée par la construction de nouvelles routes et zones résidentielles et de production. Entre les 13^{ème} et 16^{ème} siècles, les constructions se sont multipliées ainsi que les rénovations de bâtiments antérieurs. Cette urbanisation croissante est également observée dans la zone funéraire en elle-même, notamment par

l'installation de jardins. Des puits de décharge ont par ailleurs été installés pour la gestion des eaux usées et déchets ménagers.

Ces puits consistent le plus souvent en cônes tronqués sis de parois en briques et parfois assez profonds pour perturber les niveaux stratigraphiques antérieurs, incluant dès lors les sépultures. Au regard de la maçonnerie sèche constituant les ouvrages, la composante liquide des déchets qui y étaient déposés devait certainement s'infiltrer dans le sédiment environnant alors enrichi des particules en suspension ainsi transportées et modifiant sensiblement les caractéristiques chimiques de ce sol.

Les restes osseux des individus situés à proximité immédiate de tels puits montraient en effet une altération chromatique notable vers le brun foncé, ainsi qu'une plus grande fragilité en comparaison des restes éloignés des puits. L'une des variations possiblement induites par l'infiltration de liquides peut être l'altération du pH depuis des valeurs légèrement acides à basiques. Les sols de sables argileux et limons sableux sont considérés ayant une très faible perméabilité (de l'ordre de $k 10^{-5}-10^{-8} \text{ m / s}$): dans ces sols, la circulation de l'eau par infiltration depuis les puits adjacents laisse une coloration foncée au sédiment traversé, du fait de la rétention des particules organiques suspendues dans cette eau d'infiltration dans un périmètre de 1 à 1,5 mètre autour des puits. Dans le cas d'un pH légèrement acide, les restes osseux d'une telle zone amorcent un processus de dissolution de leurs carbonates conduisant à leur fragilisation. Or, ces caractéristiques sont précisément observées sur les restes situés à proximité immédiate des puits.

Le statut de chaque échantillon étudié dans ce chapitre au regard de leur proximité avec des terres noires et puits médiévaux sont résumés en Annexes 3 du présent manuscrit.

Les échantillons archéologiques

Durant les fouilles de la zone funéraire, 22 échantillons de sédiments ont été collectés dans la zone pelvienne de 18 individus. Dans une étude préalablement conduite, le protocole RHM (Réhydratation, Homogénéisation, Micro-tamissage), a été utilisé pour l'extraction d'œufs d'helminthes et des spécimens de type Ascaridé ont été observés sous microscope optique dans 6 échantillons correspondant à 5 individus différents (Roche *et al.*, 2019).

Cinq échantillons sur les 22 préalablement étudiés ont fait l'objet d'une recherche d'ADN ancien. Trois de ces 5 échantillons avaient livré des œufs de type Ascaridé sous microscope, alors que deux n'avaient livré aucun œuf. Ces 5 échantillons furent sélectionnés de sorte à 1) tester en biologie moléculaire le diagnostic d'*Ascaris* sp. préalablement basé sur l'observation d'œufs de type Ascaridé, 2) tester la présence suspectée de taxons non détectés sous microscope et 3) tester la présence d'ADN en l'absence de tout reste parasitaire préalablement observé dans les échantillons. Chaque échantillon consistait originellement en 100 gr de sédiment collectés sur le terrain lors des fouilles. Pour la recherche d'ADN ancien, chacun de ces échantillons a fait l'objet de deux processus d'extraction séparés (2 x 5 gr de sédiment), et chaque extraction a dès lors été traitée comme un échantillon différent (**Figure 21**). Dans la suite de ce chapitre, il sera en conséquence fait mention de 10 échantillons analysés, considérant que chaque échantillon initial a été traité deux fois.

Parmi les 5 échantillons initiaux collectés chez 5 individus différents, 1 échantillon a été collecté au niveau des vertèbres lombaires de l'individu correspondant, 1 échantillon a été

collecté sur le sacrum, 1 échantillon a été collecté sur le coccyx, et les deux derniers échantillons ont été collectés sur les os pelviens des individus correspondant.

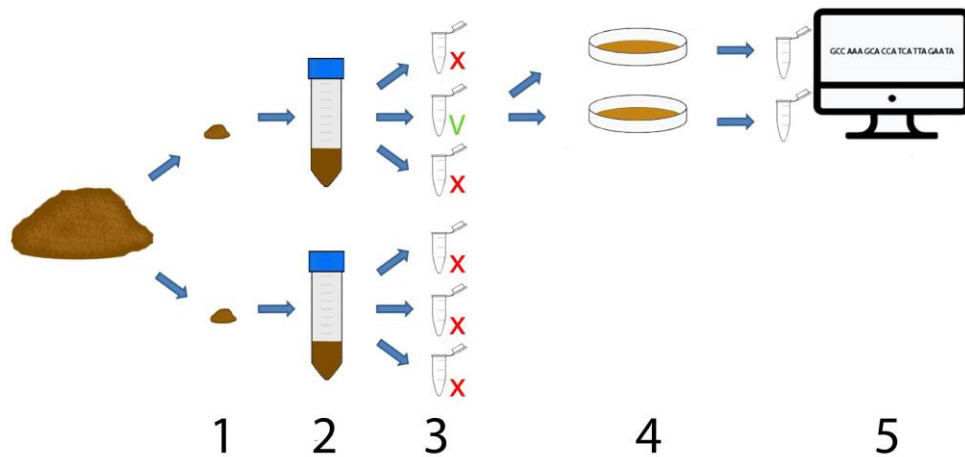


Figure 21 Résumé du design expérimental pour l'extraction d'ADN. 1) Un échantillon initial fait l'objet de deux sous-échantillonnages de 5 gr chacun. 2) Chaque sous-échantillon fait l'objet d'une extraction totale d'ADN environnemental. 3) Chaque taxon recherché fait l'objet de 3 PCR par extraction. 4) Les produits PCR positifs sont clonés dans un plasmide bactérien. 5) Les clones obtenus sont purifiés et séquencés.

Résultats

Sur 150 réactions PCR pratiquées, 29 (19,3%) ont donné un signal positif sous illuminateur Bio-Rad après électrophorèse. Les amorces Asc2 sont ainsi retournées positives dans 18 cas sur 30, alors que les amorces Trich4 sont retournées positives dans 10 cas sur 30 et les amorces Dicro22 dans 1 cas sur 30. Les couples d'amorces Fas3 et Entero4 n'ont montré aucun signal d'amplification pas plus que de signaux non spécifiques ou de dimères d'amorces.

Les triplicats de PCR n'ont pas systématiquement donné 3 résultats positifs pour un même échantillon. En effet, alors que les amorces Asc2 ont donné 3/3 résultats positifs la plupart du temps, il ne peut pas en être dit autant des amorces Trich4 et Dicro22 qui ont donné 1/3 ou 2/3 réactions positives, à l'exception du couple Trich4 lors de l'Extraction 4 qui a donné 3/3 signaux d'amplification positifs. Seul un échantillon, lors de l'Extraction 4-b, n'a montré aucun résultat positif. A l'exception du couple Asc2, les amorces n'ont donné des résultats positifs que pour l'une des deux extractions d'ADN pratiquée sur chaque individu. Rapporté à ces individus, on peut noter que chacun d'entre eux (n=5) a été testé positif pour au moins un taxon d'helminthe. En effet, un individu (T17 IND B) a été testé positif pour *T. trichiura*, trois individus ont été testés positifs pour *Ascaris* sp. et *T. trichiura* (T9 IND C, T18 IND B, T22 IND B), et un individu a été testé positif pour les deux Nématodes ainsi que *D. dendriticum* (T8 IND C, **Figure 19**). Les blancs d'extractions sont systématiquement restés négatifs.

Un produit PCR positif par couple d'amorce a par la suite été cloné et les inserts obtenus séquencés. Les trois échantillons sont retournés positifs pour leur cible en s'alignant

respectivement aux génomes d'*Ascaris* sp., *Trichuris trichiura*, et *Dicrocoelium dendriticum* par une requête BlastN sur la base de données GenBank (Figure 22). Les alignements des séquences ainsi que les inférences phylogénétiques confirment la proximité taxonomique des fragments obtenus avec les cibles recherchées.

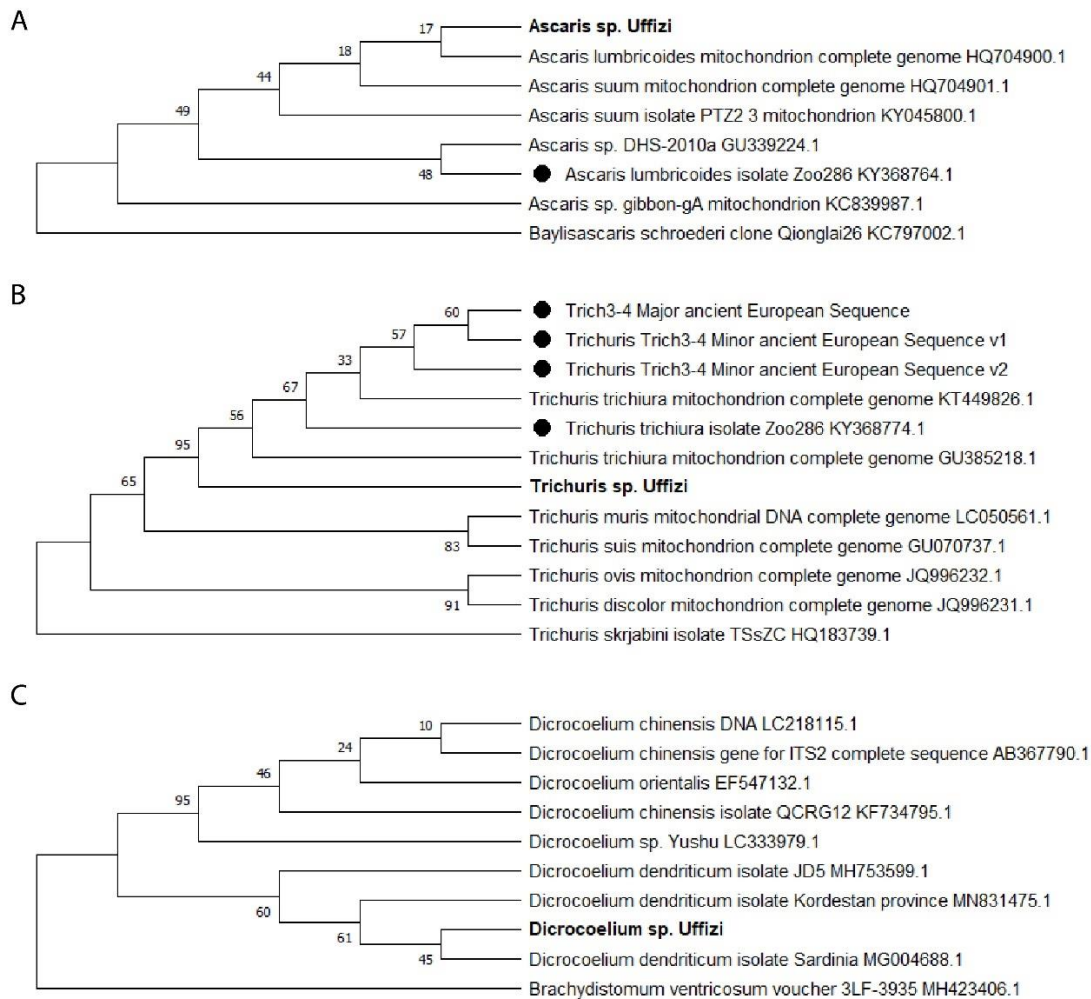


Figure 22 Relations phylogénétiques des séquences isolées (en gras) en regards des séquences anciennes préalablement publiées (points) et des séquences modernes. Les arbres ont été générés par Maximum de Vraisemblance avec 1000 bootstraps après alignement dans le logiciel MEGA X. Toutes les valeurs de bootstrap sont indiquées. A) Comme attendu, la séquence d'*Ascaris* ne permet pas de discriminer *A. lumbricoides* et *A. suum* (numéro d'accès GenBank HQ704900.1 et HQ704901.1 respectivement) et montre 100% d'homologie avec chaque taxon et dès lors les faibles valeurs de bootstraps pour les bifurcations proposées. B) *schroederi* a été utilisé pour enraciner l'arbre. B) Le fragment obtenu pour *Trichuris* tombe clairement dans la variabilité de *T. trichiura*, infestant les primates dont les humains. Les séquences anciennes Trich 3-4 ont été extraites de Côté et al., 2016. *T. skrjabini* a été utilisé pour enraciner l'arbre. C) Le fragment obtenu pour *Dicrocoelium* groupe avec *D. dendriticum* est est séparé de *D. chinensis*. *B. ventricosum* a été utilisé pour enraciner l'arbre.

Individus	Zone de prélèvement	Extractions	Nbr de PCR + par paire d'amorces					Oeufs type Ascaridé	Perturbations
			Asc2	Trich4	Dicro22	Fas3	Entero4		
T9 IND C	Sacrum	Extrac_1	3	1	0	0	0	Oui	Fosse
		Extrac_1-b	3	0	0	0	0		
T8 IND C	Lombaires	Extrac_2	3	0	1	0	0	Oui	Individu
		Extrac_2-b	3	2	0	0	0		
T22 IND B	Coccyx	Extrac_3	2	2	0	0	0	Oui	-
		Extrac_3-b	3	0	0	0	0		
T17 IND B	Pelvis	Extrac_4	0	3	0	0	0	-	-
		Extrac_4-b	0	0	0	0	0		
T18 IND B	Pelvis	Extrac_5	0	2	0	0	0	-	-
		Extrac_5-b	1	0	0	0	0		

Tableau 8 Résultats pour 150 réactions PCR. Chaque paire d'amorces est testée 3 fois par produit d'extraction. Cela a pour but de minimiser les erreurs de type II dues à la dégradation de l'ADN ancien, sa rareté dans la matrice sédimentaire, et à la présence d'inhibiteurs de PCR. Les résultats des PCR sont indiqués en vis-à-vis des résultats sous microscope (œufs de type Ascaridé). Les perturbations indiquent respectivement si la fosse ou l'individu a été recoupé par un puits médiéval.

Discussion

Résultats PCR et conservation de l'ADN ancien

En dépit du faible nombre de réactions PCR concluantes, tous les individus testés se sont révélés positifs pour au moins un parasite recherché, contrairement aux résultats obtenus en microscopie optique. A l'exception d'*Ascaris* sp., les PCR positives tendaient à n'être observées que dans une seule extraction par échantillon initial. Cela n'est pas surprenant dans la mesure où pour chaque extraction, 5 gr de sédiment ont été sous-échantillonnés depuis un volume initial de 100 gr. Or il se peut que l'ADN ancien ne soit pas préservé et/ou distribué de manière homogène à l'intérieur de ce volume initial, et dès lors, il faut s'attendre à ce que deux extractions provenant de ce même volume ne donnent pas forcément toutes deux des résultats positifs ainsi que cela avait déjà été suggéré (Côté *et al.*, 2016).

La même observation peut être faite concernant les triplicats de PCR. Les amorces Asc2 ont probablement bénéficié du grand nombre d'œufs initialement produits par les vers adultes d'*Ascaris* sp.. En effet, ceux-ci peuvent pondre jusqu'à 200 000 œufs par jour et par femelle, contrairement à 5000 œufs par jour et par femelle chez *T. trichiura* (Bogitsh *et al.*, 2012). De plus, les œufs d'*Ascaris* sp. possèdent une double coque et n'ont pas de bouchons polaires muqueux contrairement à *T. trichiura*. Les vers adultes du *Dicrocoelium* peuvent quant à eux pondre quelques centaines à quelques milliers d'œufs par jour et par individu gravide selon l'espèce hôte infestée (Beck *et al.*, 2015). La présence d'un opercule pourrait, en plus de leur faible nombre initial, avoir limité la préservation de l'ADN de leur contenu cellulaire. Ainsi, il semble raisonnable de supposer qu'une meilleure préservation de l'ADN ancien d'*Ascaris* sp. a été favorisée par les caractéristiques structurelles de ses œufs ainsi que par la physiologie de ce taxon là où des espèces aux œufs moins nombreux et plus fragiles auraient été plus exposées aux contraintes taphonomiques de nature à détruire les molécules d'ADN et

à inhiber la réaction enzymatique de la polymérase *Taq* lors de l'amplification, ce qui est un problème bien connu de la paléogénétique (Baar *et al.*, 2011; Schrader *et al.*, 2012). Il faut par ailleurs rappeler que les œufs de type Ascaridé observés sous microscope étaient très mal conservés et avaient notamment perdu leurs coques externes dans la plupart des cas. Le contenu cellulaire semblait néanmoins présent chez plusieurs spécimens (Roche *et al.*, 2019). Cet état de conservation médiocre, non seulement diminue les chances de retrouver des fragments d'ADN ancien qui soient exploitables, mais pourrait également nuire à leur stabilité lors de processus d'extraction trop stringents comme cela a été suggéré de la solution C3 du kit PowerMax Soil (Murchie *et al.*, 2020).

Le nombre de vers par hôte peut grandement varier selon la gravité de l'infestation. Cependant, ce nombre de vers est probablement négligeable dans la disponibilité de l'ADN ancien au sein d'un échantillon de sédiment, comparé à la biomasse totale du taxon alors présent dans ce micro milieu du vivant de l'individu infesté. Par exemple, les femelles adultes de l'*Ascaris* peuvent atteindre 20 à 49 cm de long pour 3 à 6 mm de diamètre, alors que les *Trichuris* adultes varient de 30 à 50 mm de long (Roberts et Janovy, 2012) et que les *Dicrocoelium* adultes varient de 8 à 14 mm de long pour 2 à 3 mm de large (Otranto et Traversa, 2002). Considérant que les molécules d'ADN anciennes tendent à être préservées principalement sous forme extracellulaire liée aux minéraux et acides humiques du sol (Rawlence *et al.*, 2012), non seulement le nombre et la résistance des œufs initialement disséminés, mais surtout la biomasse totale de tissu de parasites initialement disponible dans le conduit intestinal infesté explique certainement une grande part des différences observées sur le taux de positivité de différents taxons. Ce mécanisme de préservation extracellulaire bien connu en paléogénétique explique également la détection de l'ADN de parasites y compris en l'absence de restes observables ou de contenus cellulaires.

Localisation anatomique des taxons et percolation de l'ADN

Il est possible d'observer une certaine variation entre le nombre de taxons détectés et de PCR positives par individu testé. De manière intéressante, on peut corréliser ces résultats à la localisation anatomique des échantillons concernés. En effet, les parasites investissent généralement des niches écologiques restreintes et variables selon les espèces d'hôtes considérées. Concernant les vers gastrointestinaux, ces niches consistent en différentes parties du *tractus* digestif de leur hôte, notablement le lieu où se rencontrent les vers adultes et d'où sont disséminés les œufs en grandes quantités. Alors que le cycle biologique complet de l'*Ascaris* implique son passage en dehors du tube digestif (notamment lors de la phase migratoire pulmonaire des juvéniles, Bogitsh *et al.*, 2012), le gros de la biomasse du parasite est à trouver là où les vers sexuellement matures se rencontrent, s'accouplent et produisent des centaines de milliers d'œufs. On peut ainsi observer que l'*Ascaris* à Florence tend à ne pas être détecté dans les échantillons collectés au niveau de la fosse iliaque des individus diagnostiqués. Cela pourrait être corrélé au cycle du parasite vivant à l'état adulte non pas dans le gros intestin, jointif de la fosse iliaque, mais dans l'intestin grêle (Bogitsh *et al.*, 2012). La localisation centrale de ce dernier le long du rachis pourrait avoir favorisé la détection de l'*Ascaris* dans cette région anatomique *post-mortem*. *A contrario*, les échantillons éloignés du rachis pourraient avoir limité la détection de ce parasite. Il faut noter cependant que des œufs de type Ascaridé ont été observés dans deux échantillons supplémentaires préalablement étudiés sous microscope (Roche *et al.*, 2019), sans que cela ne semble constituer plus qu'une exception. Il est possible d'appliquer la même logique à *T. trichiura* qui a été détecté dans toutes les situations testées lors de cette étude, avec cependant

un maximum de PCR positives observé dans un échantillon collecté au niveau de la fosse iliaque. À nouveau, cela pourrait être corrélé à la tendance de ce vers à coloniser le *caecum* et le côlon ascendant de l'hôte infesté à l'état adulte (Bogitsh *et al.*, 2012). La détection du *Trichuris* plus loin dans le côlon est aisément expliquée par la migration des œufs émis vers le côlon ascendant et l'anus de l'hôte. Cela est également valable pour l'*Ascaris*. Ainsi, il n'est pas surprenant de les trouver assez haut au niveau des premières vertèbres lombaires (T8 IND C), à proximité du côlon transverse parcouru par les œufs nouvellement émis, mais également à proximité du duodénum à travers lequel des œufs nouvellement ingérés migrent vers leur zone d'éclosion dans l'intestin grêle. La détection de *D. dendriticum* dans cette région lombaire peut être expliquée de la même façon, ce dernier parasitant de surcroît les canaux biliaires (Roberts and Janovy, 2008), où il faut donc s'attendre à trouver l'essentiel de la biomasse initiale du parasite. Ce dernier point n'est cependant tenable qu'en considérant avoir à faire à un véritable cas de dicrocoeliose, ce qui sera discuté plus loin. Mais il est notable de constater que ce parasite a seulement été détecté dans l'échantillon provenant de cette région anatomique.

Néanmoins, il faut aussi insister sur le contexte taphonomique de l'individu chez lequel le *Dicrocoelium* a été détecté, le seul dont le corps a été recoupé au niveau de ses membres inférieurs par le creusement d'un puits d'époque plus tardive. La pollution générée par la composante liquide s'écoulant depuis le puits dans le sédiment environnant pourrait expliquer la détection du *Dicrocoelium* chez cet individu, et cette possibilité est rendue hautement crédible par les observations taphonomiques mentionnées précédemment. De fait, la percolation de l'ADN du *Dicrocoelium*, certes ancien, mais d'époque plus tardive, au niveau de la zone pelvienne de cet individu d'époque romaine, ne peut pas être exclue.

Concernant tous les autres individus, qui s'avèrent être éloignés des puits médiévaux, la diversité parasitaire détectée ainsi que le taux de positivité des PCR semblent au moins en partie pouvoir être expliqués par la biomasse initialement présente pour chacun de ces taxons dans les zones anatomiques concernées et directement dépendantes du cycle de développement normal de ces animaux chez des hôtes véritablement infestés. Par ailleurs, la biomasse des parasites initialement présents dans le tube digestif de leur hôte, et s'y décomposant après la mort de celui-ci, semble mieux expliquer ces détections inhomogènes plutôt que la percolation de l'ADN depuis des couches de terres noires plus tardives et surplombant certaines sépultures en contexte de débordement régulier de l'Arno (Nicosia *et al.*, 2012). Les choses sont plus incertaines concernant la détection du *Dicrocoelium* et la possible dispersion d'ADN depuis le puits médiéval tout proche ayant perturbé la sépulture (T8 IND C). La percolation de l'ADN est une problématique majeure de la paléogénétique dont certaines études ont montré les effets en contextes anciens et modernes (Haile *et al.*, 2007 ; Andersen *et al.*, 2012), en particulier pour ce qui concerne des échantillons discontinus provenant de milieux ouverts et non gelés (Rawlence *et al.*, 2014). *A contrario*, certains travaux ont mis en évidence que cette percolation était loin d'être systématique, même en contexte de rives alluviales régulièrement inondées (Hebsgaard *et al.*, 2009 ; Andersen *et al.*, 2012).

Ce phénomène pourrait être pris en compte sur le site de la Galerie des Offices, notamment par l'échantillonnage systématique des couches archéologiques surplombant les sépultures et la quantification relative de l'ADN ancien présent pour un même taxon entre les couches de terres noires et les dépôts alluviaux sous-jacents où ont été disposés les défunts de l'époque romaine tardive. Toujours est-il que si on peut s'attendre à observer une certaine percolation

de l'ADN de la faune mammifère, notamment des animaux d'élevage ayant fréquenté les lieux après l'utilisation de la zone funéraire, à plusieurs dizaines de centimètres de profondeur comme cela a déjà été observé (Andersen *et al.*, 2012), la percolation de l'ADN de la faune des parasites gastro-intestinaux serait probablement négligeable en comparaison de l'ADN directement disponible dans le tube digestif des individus initialement infestés.

De la même façon, la problématique de la distribution des différents taxons détectés à l'intérieur du volume corporel d'un individu pourrait être approchée par la mise en place d'un échantillonnage systématique par carroyage. Il serait ainsi possible de distinguer l'effet d'une véritable détection différentielle en fonction de la localisation anatomique des prélèvements, d'un simple biais taphonomique. Bien entendu, les bioturbations exogènes mais également les phénomènes ayant cours au moment de la putréfaction du corps du défunt ainsi que des contextes et pratiques funéraires variables (présence de linceuls, de coffrages...), pourraient interférer avec la distribution initiale des différents taxons de parasites à l'intérieur et à l'extérieur du volume corporel de l'individu concerné. En ce qui concerne la nécropole de la Galerie des Offices, l'absence de coffrages a probablement limité la présence des espaces vides entourant pour un certain temps les défunts et *a fortiori* la circulation des fluides de décomposition. De même, l'utilisation de cet espace funéraire pour une courte période seulement (certainement guère plus de quelques semaines), a probablement prévenu le remaniement constant du sédiment dans lequel étaient enterrés les défunts et comme cela peut être vu dans des cimetières utilisés durant de longues périodes.

Les parasites détectés, fréquence et comparaison avec le diagnostic microscopique

L'approche microscopique a permis dans un premier temps de détecter un individu candidat aux analyses moléculaires (T9 IND C) par le grand nombre d'œufs de type Ascaridé observés pour 6 lamelles. L'*Ascaris* semble bien implanté dans cet échantillon de population archéologique (détecté chez 4 individus sur 5). Les analyses moléculaires ont en effet confirmé la présence d'ADN d'*Ascaris* sp. chez 3 individus où avaient préalablement été observés des œufs de type Ascaridé, ainsi que chez un quatrième individu pour lequel aucun œuf n'avait été observé sous microscope. Ces résultats ont permis de rapidement attester de la faisabilité des recherches en paléoparasitologie moléculaire sur le site de la Galerie des Offices où les rares œufs observés étaient pourtant fort mal préservés.

Ainsi et comme il avait déjà été suggéré, l'approche ADN a permis de révéler la présence du *Trichuris* chez les 5 individus testés, alors qu'aucun œuf n'avait été détecté en microscopie (Roche *et al.*, 2019). En effet, le cycle biologique et les conditions environnementales nécessaires à la dissémination de *T. trichiura* et d'*Ascaris* sp. sont très similaires, et il est commun de retrouver ces deux Nématodes infestant un même individu (Howard *et al.*, 2001). Pour ces deux Nématodes, leur détection chez la majorité des individus testés est tout à fait cohérente avec leur grande ubiquité écologique et leur cycle biologique direct. D'un autre côté, la dicrocoeliose est une parasitose particulièrement rare chez les humains, et sa détection est le plus souvent un signe de faux parasitisme (Magi *et al.*, 2009). De fait, la rareté de sa détection dans cet assemblage semble également cohérente avec sa biologie et son épidémiologie actuelles.

Causes et conséquences du fardeau parasitaire observé

Les parasites détectés sur le site de la Galerie des Offices sont essentiellement liés à de mauvaises conditions sanitaires. Aussi bien *Ascaris* sp. (probablement *A. lumbricoides* dans

ce contexte anthropique) et *T. trichiura* sont des parasites à transmission féco-orale dont les œufs sont disséminés au sol lors de la défécation de leur hôte. Ces œufs deviennent alors infestant en quelques semaines et peuvent être ingérés accidentellement par un nouvel hôte. La contamination est généralement le fait de contact entre les mains sales et la bouche, l'ingestion d'eau souillée, ou de végétaux pollués de déjections humaines. L'utilisation d'excréments humains pour la fertilisation des cultures, l'absence de toilettes modernes et une forte densité de population accroissent considérablement les risques d'infestation.

L'ascaridiose et la trichocéphalose sont relativement asymptomatiques de nos jours en Occident où leurs prévalences sont très basses. Dans les régions moins avantagées cependant, ces infestations normalement bénignes peuvent être sources de spoliation nutritionnelle, de retards de croissance, de douleurs abdominales, diarrhées, occlusions intestinales ou anémies (Crompton, 2001; Savioli and Albonico, 2004; de Silva and Cooper, 2011). Dans un contexte de pénurie alimentaire ou de systèmes d'hygiène déficients, ces parasites peuvent favoriser ou renforcer des états de famine ou l'impact de co-infections virales et bactériennes. Ces conditions difficiles étaient certainement vécues sur une base régulière parmi les populations de l'époque romaine tardive en Italie (Mitchell, 2017). La situation de déclin connue à cette époque par la ville de Florence, la destruction de l'aqueduc, et la cooccurrence probable d'une épidémie d'origine encore inconnue, ont pu être de parfaits leviers à la dispersion et à l'aggravation des parasitoses détectées.

Ces résultats étayaient des hypothèses précédemment émises concernant une plus grande fréquence des parasitoses dans cette population, ainsi que des cas de co-infections par plusieurs espèces proches de parasites. Il faut cependant souligner que ces deux parasitoses, à savoir l'ascaridiose et la trichocéphalose, sont bien connues en Occident depuis la Préhistoire (Le Bailly *et al.*, 2012), et semblent montrer une fréquence de détection particulièrement élevée durant l'Antiquité (Le Bailly *et al.*, 2011 ; Dufour, 2015). Ainsi une estimation robuste des effets des changements environnementaux divers et des stress d'origine culturelle (comme les contextes de guerre) sur la fréquence et la diversité du parasitisme au sein des populations anciennes, semble être un enjeu important de la paléoparasitologie dans un avenir proche.

Le *Dicrocoelium* n'est quant à lui pas corrélé au péril fécal mais aux habitudes alimentaires. En effet, cette douve du foie infeste communément vaches et moutons. Ses œufs sont disséminés dans l'environnement extérieur où les larves sont successivement ingérées par un mollusque terrestre et une fourmi. Le comportement des fourmis infestées se voit alors modifié de sorte à les conduire au sommet de brins d'herbes auxquels elles s'agrippent de manière anormale. Ce phénomène de manipulation parasitaire favorise l'ingestion involontaire des fourmis par un mammifère herbivore, hôte définitif de la douve, et dans le foie duquel celle-ci pourra s'établir et disséminer de nouveaux œufs (Ortando et Traversa, 2002). En conséquence, les humains n'ont que peu d'occasions de s'interposer dans le cycle biologique normal du *Dicrocoelium* qui nécessiterait, pour aboutir à une véritable infestation, l'ingestion volontaire ou non de fourmis infestées. De fait, la détection d'œufs de *Dicrocoelium* dans les selles humaines est plus souvent le fait de l'ingestion récente de foie de ruminant, lui-même infesté et contenant des œufs. Ces œufs qui ne peuvent pas se développer directement dans le tube digestif de l'hôte humain passent alors au travers de celui-ci et sont excrétés avec le reste du bol alimentaire. On parle dans ce cas-là de fausse infestation.

Des œufs de *Dicrocoelium* sp. ont précédemment été détectés dans le registre paléoparasitologique en Europe à l'époque romaine (Le Bailly et Bouchet, 2010). En Italie notamment, ils ont été observés dans des carottes sédimentaires prélevées dans le port d'Ostie et datées de l'époque romaine, et dans des fosses d'époque médiévale à Parme (Florenzano *et al.*, 2012 ; Dufour, 2015). Dans de tels contextes, la problématique de vraies ou fausses infestations humaines n'a pas pu être approchée dans la mesure où ces œufs pouvaient avoir été disséminés sur le sol par des herbivores, sans aucunement impliquer le passage chez des hôtes humains.

La consommation de viande de bovins est bien connue à l'époque romaine grâce au registre archéozoologique, notamment en Italie (MacKinnon, 1999). Les sources textuelles apportent également de précieuses informations concernant les habitudes culinaires pour la période d'utilisation de la nécropole de la Galerie des Offices (MacKinnon, 1999 ; Moses, 2012). On connaît par exemple au début du 4^{ème} siècle de notre ère, l'Edit de Dioclétien (*Edictum de pretiis rerum venalium*), destiné à limiter l'augmentation des prix de nombreux biens de consommation, notamment sur la nourriture. Ainsi, le prix pour la viande de mouton est entre autres connu pour cette époque, et par là même sa consommation usuelle. Mais rien ne semble dit du foie de mouton, par opposition au *Ficatum*, le foie de porc gavé. Daté de la fin du 4^{ème} siècle, le livre de cuisine d'Apicius (*De re coquinaria*) détaille en revanche de nombreuses recettes ainsi que leurs ingrédients, dont le foie de nombreux animaux, incluant le foie de mouton.

Il n'est pas aisé de déterminer avec certitude la popularité et l'accessibilité de tels mets culinaires qui pourraient par ailleurs avoir été réservés à une certaine élite dans la société romaine. Cependant, il est raisonnable de penser que des habitudes alimentaires diversement appréciées au travers de multiples populations anciennes, ont pu conduire à des patterns de fréquences de détections différents en termes de vrai comme de faux parasitisme dès lors que ces habitudes ont exposé de manière variable leurs pratiquants à des parasites exploitant les réseaux trophiques impliqués (Reinhard *et al.*, 2013). L'analyse des isotopes stables couplée à la paléoparasitologie pourrait permettre de mieux estimer l'importance du vraie ou du faux parasitisme en révélant la base alimentaire des individus concernés.

Il faut cependant évoquer un cas bien connu de dicrocoeliose vraie reconnue pour l'époque romaine. La découverte d'œufs de *Dicrocoelium* dans le tissu hépatique humain préservé en contexte archéologique est le seul moyen de prouver un véritable cas d'infestation humaine par le *Dicrocoelium* dans le passé. C'est justement ce qui a pu être observé dans les tissus de la momie de tourbière de la Femme de Zweeloo aux Pays-Bas (Searcey *et al.*, 2013). Si la dicrocoeliose vraie est effectivement détectable sans équivoque dans ce genre de circonstances rares, des détections individuelles en contexte sédimentaire, fussent-ils pelviens comme à Florence, ne permettent pas un diagnostic définitif concernant la véracité de l'infestation par le *Dicrocoelium* détecté. La systématisation des études paléoparasitologiques en contexte funéraire permettra certainement à l'avenir de constater *a minima* la fréquence plus élevée ou non de ce type de parasites chez des populations par ailleurs connues pour s'y exposer par des pratiques alimentaires particulières.

Enfin, la comparaison du spectre parasitaire détecté avec les données paléodémographiques incluant le sexe, l'âge au décès et les conditions pathologiques associées, pourrait permettre une véritable approximation des dynamiques parasitaires au sein des populations anciennes, notamment celle de la Galerie des Offices.

Conclusion

L'approche ici adoptée, d'abord guidée par un diagnostic microscopique exploratoire, qui est la méthode la plus couramment employée jusqu'à présent en paléoparasitologie, nous a permis d'identifier des échantillons contenant des œufs de parasites à tester pour l'extraction d'ADN ancien. L'approche ciblée nous a permis de détecter la présence de fragments d'ADN d'*Ascaris* sp., *Trichuris trichiura*, et *Dicrocoelium dendriticum*. Alors qu'un seul taxon (des œufs de type Ascaridé) avait été détecté sous microscope chez 3 individus parmi 5 plus tard testés en paléogénétique, ces 5 individus ont chacun été testés positifs pour au moins un taxon d'helminthe parasite après extraction d'ADN.

L'*Ascaris* a été détecté chez les 3 individus ayant préalablement livré des œufs de type Ascaridé, ainsi que chez 1 individu supplémentaire. Deux taxons supplémentaires ont été détectés, notamment *T. trichiura* chez les 5 individus testés. La co-infestation *Ascaris-Trichuris* concerne 4 individus sur 5, alors qu'un seul individu a été testé positif pour le *Trichuris* seulement. Cette observation suggère un état de péril fécal avancé au sein de cette population, incluant la pollution des sols, de l'eau de boisson et/ou de la nourriture par des matières fécales humaines. Ce fardeau parasitaire pourrait avoir renforcé l'effet d'autres conditions sanitaires néfastes, comme une épidémie par ailleurs suggérée par le contexte de dépôt des individus inhumés.

D. dendriticum a également été détecté chez un individu par ailleurs positif à l'*Ascaris* et au *Trichuris*. La consommation de foie de ruminant est bien connue à l'époque romaine et elle pourrait avoir conduit à une fréquence accrue du faux parasitisme par le *Dicrocoelium* dans cette société comparée à d'autres populations. Mais un cas de vraie infestation à *D. dendriticum* n'est pas à exclure au regard du registre paléoparasitologique de l'époque romaine et il n'est pas possible de trancher en l'état en ce qui concerne l'individu dont il est ici question. De plus, et bien que le contexte culturel alimente cette problématique, la possibilité d'une fausse infestation par le *Dicrocoelium* ne devrait pas être considérée comme acquise au regard des risques de percolation de l'ADN depuis des couches médiévales et bien mis en évidence en ce qui concerne l'individu C de la tombe 8 (T8 IND C).

La multiplication des études paléoparasitologiques combinant les approches microscopique et paléogénétique en contexte funéraire permettront certainement à l'avenir de mieux distinguer des approximations fiables des dynamiques infectieuses anciennes à travers le temps de possibles facteurs confondants comme la percolation de l'ADN entre couches stratigraphiques ou la variabilité de la préservation et de la disponibilité de l'ADN ancien en fonction de la localisation anatomique des échantillons à l'intérieur de la cavité corporelle.

Chapitre 3 : Environnement et pastoralisme dans le bassin versant d'Asi Gonia, Montagnes Blanche, Crète.

Ce chapitre à fait l'objet d'une publication scientifique :

-Roche, K., Jouffroy-Bapicot, I.; Vannière, B.; Le Bailly, M. Ancient Parasites from a Peat Bog: New Insights into Animal Presence and Husbandry in Crete over the Past 2000 Years. *The Holocene* **2020**, 30, 1243–1253, doi:10.1177/0959683620919984

Introduction

La paléoparasitologie concerne l'étude de l'évolution et de l'histoire écologique des organismes parasitaires par le biais de leur observation dans des échantillons archéologiques, paléontologiques ou médicaux (Araujo *et al.*, 2003; Dittmar *et al.*, 2012). Les espèces ovipares de vers gastro-intestinaux produisent en effet des œufs microscopiques partiellement chitineux chez de nombreuses espèces et, de ce fait, résistants aux contraintes taphonomiques. Ces œufs préservés marquent la présence des vers parasites adultes qui les ont pondus dans l'environnement ancien d'où a été extrait l'échantillon. Les échantillons les plus communément étudiés en paléoparasitologie correspondent à des fèces anciennes (parfois improprement appelées coprolithes), ou des échantillons de sédiments provenant de contextes hautement anthropiques comme des sépultures, des latrines ou des égouts. Dans de tels contextes archéologiques, les parasites peuvent fournir des informations sur la santé, l'hygiène, l'alimentation ou encore les migrations de populations (Le Bailly & Araujo, 2016; Reinhard *et al.*, 2013).

Cependant, ces dernières années ont livré un nombre croissant d'analyses paléoparasitologiques conduites en contexte non-anthropique, ouvrant ainsi la voie pour l'étude de la diversité parasitaire animale non-humaine (Le Bailly & Bouchet, 2010; Sianto *et al.*, 2012, 2014; Vieira de Souza *et al.*, 2012 ; Dentzien Dias *et al.*, 2013; Wood *et al.*, 2013; Dufour *et al.*, 2015; Beltrame *et al.*, 2011, 2014, 2015a, 2015b, 2017, 2018; Fugassa *et al.*, 2018; Leles *et al.*, 2018; Slepchenko & Reinhard, 2018). Dans de tels contextes, les parasites observés peuvent être utilisés comme proxy de la présence animale dans les environnements où ils ont été observés, et éclairer la diffusion des parasitoses au cours du temps chez la faune sauvage et domestique.

Dans sa thèse de doctorat portant sur plusieurs établissements néolithiques de l'arc alpin en contexte lacustre, Dommelier-Espejo (2001) a été la première à conduire des analyses paléoparasitologiques sur des échantillons de carottes sédimentaires (Dommelier-Espejo, 2001; Dommelier-Espejo & Pétrequin, 2016). L'enjeu initial de cette étude était de rendre compte des changements de diversité parasitaire durant la période d'occupation de ces sites archéologiques lacustres. Depuis ce travail *princeps*, des carottes sédimentaires ont également été étudiées dans d'autres contextes archéologiques (Dufour, 2015 ; Ledger *et al.*, 2018 ; Maicher, 2019). Cependant et en dépit de l'intérêt d'une telle approche, celle-ci n'a jamais été employée dans l'étude d'archives naturelles en dehors de tout site archéologique connu jusqu'à présent.

Les œufs de parasites gastro-intestinaux sont parfois retrouvés dans les études palynologiques où ils sont classés parmi les NPP (*Non-Pollen Palynomorphs*), au côté d'autres restes comme les spores de champignons (van Geel, 1978; van Geel *et al.*, 2002; Brinkkemper & van Haaster, 2012; Hillbrand *et al.*, 2014; Miras *et al.*, 2015; Tunno & Mensing, 2017). Cependant, l'observation de tels œufs lors de ces analyses se limite généralement à leur

mention sans être véritablement exploités au travers d'une recherche systématique. Jusqu'à présent en effet, les reconstructions environnementales n'ont jamais été associées à des analyses paléoparasitologiques suivant les standards de la discipline. Pourtant, Dufour et Le Bailly (2013) ont montré la supériorité du protocole d'extraction standard dit RHM (Réhydratation – Homogénéisation – Micro tamisage) sur les méthodes palynologiques dans l'observation d'œufs d'helminthes gastro-intestinaux.

Nous présentons ici une approche paléoparasitologique originale pratiquée le long d'une séquence sédimentaire prélevée par carottage au centre de la tourbière d'Asi Gonia située dans les Montagnes Blanches de Crète. Le but de ce chapitre est ainsi de documenter les assemblages parasitaires observés, et le cas échéant la diversité animale associée à ces assemblages et les pratiques agropastorales qui peuvent en avoir été à l'origine depuis l'époque romaine jusqu'à nos jours. Une analyse multi-proxy récente a montré que la modification de l'environnement dans le bassin d'Asi Gonia ces 2000 dernières années était principalement d'origine anthropique, en particulier du fait des activités agropastorales pratiquées localement (Jouffroy-Bapicot *et al.* 2016). Ces analyses ont effectivement montré de fortes accumulations de spores de champignons coprophiles, en particulier dans les premières décennies de la turbigenèse. Ces spores de champignons sont généralement corrélées à la présence de mammifères herbivores (e.g., Gill *et al.*, 2013, van Geel and Aptroot 2006), et ont été interprétées comme marqueurs de pression pastorales dans les écosystèmes terrestres (e.g., Baker *et al.*, 2016; Cugny *et al.*, 2010). Une étude récente a ainsi montré que l'accumulation de spores de champignons coprophiles était hautement dépendante de la pression pastorale dans les montagnes de l'Ouest de la Crète à l'heure actuelle (López-Sáez *et al.*, 2018). Il est dès lors permis de penser que la présence animale aux alentours de la tourbière d'Asi Gonia et rendue visible par l'accumulation de spores de champignons coprophiles, peut être approchée de manière complémentaire par les parasites disséminés dans leur environnement par ces animaux. Si l'observation de tels parasites est bien confirmée, il devient théoriquement possible d'étudier la diversité animale à l'origine de la dissémination de ces parasites dans l'environnement et ses variations au cours du temps, et de comparer ces variations avec celles observées pour d'autres marqueurs, comme les spores de champignons coprophiles (Ejarque *et al.*, 2011).

Matériels et méthodes

La tourbière se situe sur la commune d'Asi Gonia à l'extrémité orientale de la chaîne des Montagnes Blanches à l'Ouest de la Crète (**Figure 23**). A une altitude de 780 mètres, la tourbière marque le départ d'un affluent de la rivière Kouoularas au printemps. En dépit du climat méditerranéen typique en Crète, la région d'Asi Gonia est notablement plus humide, expliquant la présence de cette tourbière, seule connue à l'heure actuelle sur l'île (**Figure 24**). Cette tourbière a récemment été étudiée au travers d'une analyse multi-proxy de haute résolution (Jouffroy-Bapicot *et al.*, 2016) par le biais d'une carotte sédimentaire de 6 mètres de long prélevée dans la zone la plus profonde de la formation et datée par 15 datations radiocarbone du 1^{er} siècle avant notre ère (époque hellénistique tardive / époque romaine) jusqu'à nos jours. Cette première analyse a permis d'observer l'évolution paléoenvironnementale du site ces deux derniers millénaires avec une haute résolution temporelle. L'environnement géographique de la tourbière est caractérisé par sa situation au creux d'un petit bassin versant, représentant un lieu idéal pour un effet collecteur des eaux de ruissellement alentours, et avec elles, les micro-restes et bio-marqueurs drainés le long des pentes (Baker *et al.*, 2013). Pour conduire cette étude, 22 échantillons de sédiments ont été

collectés le long de la séquence, consistant en 2 gr de matière humide et préparés selon le protocole RHM (Dufour et Le Bailly, 2013). Ce protocole est détaillé dans la partie *Matériel et Méthode* du présent manuscrit.



Figure 23 Localisation de la tourbière d'Asi Gonia dans les Montagnes Blanches, à l'Ouest de la Crète en Mer Egée.



Figure 24 Situation actuelle de la tourbière d'Asi Gonia, au centre du paysage, au-delà de la route. La forêt de chênes verts de l'époque romaine a laissé place de nos jours à la steppe de phrygane typique du pourtour méditerranéen. Une modeste zone boisée subsiste autour de la zone humide (photo : Isabelle Jouffroy-Bapicot).

Résultats

Diversité parasitaire observée et hôtes possibles

Parmi les échantillons analysés, 19 d'entre eux (soient 86,4%) se sont révélés positifs à la présence d'œufs de parasites gastro-intestinaux. Au total, 58 œufs ont été observés, correspondant à 9 morphotypes identifiés selon leurs traits morphométriques. Ce sont 5 genres du phylum des Nématodes qui ont pu être identifiés, à savoir *Trichuris* sp., *Ascaris* sp., deux morphotypes du genre *Capillaria*, un morphotype de type Strongyle, et un morphotype inconnu dans la littérature scientifique et appartenant au groupe des Tricocéphalidés. Deux autres genres appartenaient à la classe des Trématodes, à savoir *Fasciola* sp. et *Paramphistomum* sp.. Plusieurs spécimens du genre *Macracanthorhynchus* appartenant à la classe des Acanthocéphales ont également été observés (**Figure 25**).

Parmi les Nématodes, les œufs du genre *Trichuris* présentent une forme caractéristique dite en citron, dont chaque extrémité est caractérisée par la présence d'un bouchon muqueux. Leur surface est lisse, sans ornementation (Horton, 2014). Dans la plupart des cas, ces bouchons sont absents sur les spécimens anciens, comme il a pu être observé à Asi Gonia. Le genre *Trichuris* englobe plusieurs espèces infestant le *caecum* et les colons de différentes espèces d'hôtes mammifères et aviaires. La taille de ces œufs varie selon les espèces, qui peuvent cependant présenter de forts chevauchements et ne permettre ainsi qu'une identification partielle (Dufour, 2015). Pour une description plus complète du genre *Trichuris*

et des œufs observés, il est possible de se référer à la partie IV du présent manuscrit. Les spécimens observés à Asi Gonia présentent une taille moyenne de $57.8 \mu\text{m} \pm 8.6 \times 33.2 \pm 3.9$ (n=6) et peuvent être attribués à la présence de *T. trichiura* et/ou *T. suis*, infestant respectivement les humains et les suidés. Il n'est pas possible de totalement exclure la présence du Trichocéphale humain, mais le contexte environnemental et la grande taille de la majorité des spécimens permet de considérer le Trichocéphale du porc comme plus probable.



Figure 25 Diversité des restes parasitaires observés dans la tourbière d'Asi Gonia : 1-2 Trichocephalida inconnu ; 3-4 *Capillaria* sp. de type strié ; 5-6 *Capillaria* sp. de type ponctué ; 7-10 *Trichuris* sp., montrant une importante variation de tailles ; 11-12 *Ascaris* sp. ; 13-14 œufs de type Strongyle ; 15-16 *Paramphistomum* sp. ; 17-18 *Fasciola* sp. ; 19-20 *Macracanthorhynchus* sp.. Échelle = 50 μm (Roche *et al.*, 2020).

De nombreux œufs du genre *Capillaria* ont également été observés. Ceux-ci présentent également deux bouchons polaires muqueux mais également une forme de tonneau (et non plus de citron) du fait de l'angulation caractérisant le pourtour de ses orifices. Par ailleurs, les différentes espèces du genre *Capillaria* présentent une ornementation de surface caractéristique. Ce genre englobe une grande quantité d'espèces dont la phylogénie est encore peu connue et que des critères morphologiques permettent à peine d'appréhender (Borba *et al.*, 2019). Ces parasites sont connus pour communément infester les systèmes respiratoires et digestifs de nombreuses espèces de mammifères et d'oiseaux (Taylor *et al.*, 2016). Trois espèces sont en particulier connues pour infester potentiellement les humains, à savoir *Calodium hepaticum* (syn. *Capillaria hepatica*), *Paracapillaria philippinensis* (syn.

Capillaria philippinensis, *Aonchotheca philippinensis*) et *Eucoleus aerophilus* (syn. *Capillaria aerophila*). Pour une description plus approfondie du genre *Capillaria*, il est possible de consulter la partie IV du présent manuscrit. Deux morphotypes ont été observés à Asi Gonia. Le premier (n=13) est caractérisé par une ornementation de type striation sur sa surface. Ces striations fines tendent à s'étendre dans le grand axe des œufs. Le second morphotype (n=8) est caractérisé par une ornementation de type ponctuation grossière. Les ponctuations tendent à former des creux arrondis à la surface de la coque, sans organisation longitudinale. Aucun de ces deux morphotypes n'est associé à l'une des espèces connues pour parasiter l'espèce humaine. Il est donc permis de pointer une origine animale non humaine, bien qu'une identification plus spécifique ne soit pas possible.

Dans l'ensemble des échantillons analysés, un seul spécimen du genre *Ascaris* a pu être observé. Les œufs d'*Ascaris* sp. sont caractérisés par leur profil oval, leur coque interne lisse et épaisse, et leur coque externe mamelonnée. Pour une description plus complète du genre *Ascaris*, il est possible de se référer à la partie IV du présent manuscrit. L'unique œuf observé à Asi Gonia mesure 68 x 51 µm, ce qui tombe dans la variabilité normale de ce genre (50-75 µm x 40-55 µm, selon Taylor *et al.*, 2016). Le genre *Ascaris* est souvent divisé en deux espèces à hôte spécifique, à savoir *A. lumbricoides* et *A. suum*, infestant respectivement l'humain (et d'autres primates) et le porc (sauvage et domestique). Cependant, les œufs de chacune de ces deux espèces sont identiques si bien qu'il n'est pas possible de les distinguer selon des critères morphologiques. La similarité moléculaire de chacun de ces deux taxons putatifs a conduit à y voir en réalité une seule espèce, *A. lumbricoides*, infestant chacun des deux hôtes (Leles *et al.*, 2012), mais ce point reste largement débattu (Søe *et al.*, 2016). En contexte archéologique hautement anthropique, comme des latrines ou des sépultures, il serait possible d'identifier ces œufs comme ayant été disséminés par l'espèce humaine. Le cas de l'archive naturelle de la tourbière d'Asi Gonia diffère de cette situation, et il est possible de proposer ici une origine non humaine.

Un morphotype inconnu dans la littérature parasitologique a également été observé à Asi Gonia. Ses caractéristiques morphologiques permettent de le placer parmi les Nématodes et en particulier dans l'ordre des Trichocéphalidés (Figure 26). Comme les œufs du genre *Trichuris* décrits précédemment, ceux-ci présentent une forme de citron et arborent deux bouchons polaires muqueux. Néanmoins, au lieu d'une coque lisse permettant de les identifier comme une espèce de Trichocéphale, les spécimens observés présentent une surface ornementée, similairement aux taxons du genre *Capillaria*. Cette association de caractères ne correspond à aucune espèce dument décrite dans la littérature scientifique à notre connaissance. Il s'agit du morphotype le plus communément observé à Asi Gonia, présent dans 11 échantillons sur 22 pour un total de 21 spécimens sur un total observé de 58. De manière intéressante, ce morphotype n'a été mentionné que récemment et ceci dans la littérature paléoparasitologique. Le Bailly *et al.* (2019) a effectivement observé et fourni des photographies de spécimens similaires provenant de fèces de camélidés domestiques du Pérou pré-contact. Ces observations suggèrent fortement que ce morphotype appartienne à une espèce parasitant le système digestif des ruminants, bien que son cycle biologique et son spectre d'hôte soient actuellement inconnus. La compréhension de ces éléments ainsi que l'abondance de ce morphotype dans la séquence d'Asi Gonia, pourraient en faire un fort biomarqueur de présence animale à l'avenir. De surcroît, sa présence attestée au moins jusqu'au 19^{ème} siècle dans la séquence étudiée pourrait pointer vers une espèce cryptique circulant toujours chez les herbivores actuels mais n'ayant pas encore été décrite.

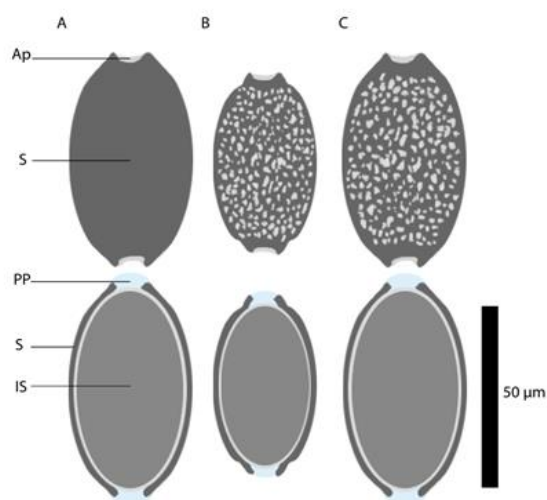


Figure 26 Comparaison des conformations respectives des œufs de A. *Trichuris* sp., B. *Capillaria* sp., et C. les Trichocéphalidés inconnus observés à Asi Gonia. La rangée du haut présente l'ornementation, et la rangée du bas présente la forme en coupe des œufs. Ap = ouverture (Aperture) ; S = Coque (Shell) ; PP = Bouchon polaire (Polar Plug) ; IS = volume interne (Inner space). Chez les spécimens frais, le volume interne contient l'embryon, mais il est la plupart du temps vide en contexte paléoparasitologique, ou rempli de matériaux exogènes. La conformation du Trichocéphalidé inconnu recoupe à la fois celle des œufs du genre *Trichuris*, et celle des œufs de genre *Capillaria*.

Un unique œuf du genre *Fasciola* a également été observé dans l'ensemble de la séquence. Le genre *Fasciola* appartient à la classe des Trématodes et ses œufs, de forme ovoïde, présentent une surface lisse et un opercule caractéristique à l'une des extrémités. Ces œufs varient de 130 à 150 µm de long pour 70 à 80 µm de large. Une description plus complète des Trématodes et du genre *Fasciola* est consultable dans la partie IV du présent manuscrit. Le spécimen observé à Asi Gonia, d'une dimension de 133 x 70 µm, tombe dans la variabilité connue de ce genre. Sa forme générale est préservée et l'opercule est toujours visible, enfoncé dans le volume interne de l'œuf. Plusieurs espèces de l'ordre des *Echinostoma* peuvent produire des œufs similaires à ceux du *Fasciola*, tels *Echinostoma* sp. ou *Fasciolopsis* sp, mais ces derniers présentent généralement de légères variations morphologiques ou une distribution géographique différente. Ces éléments nous autorisent à proposer ce spécimen comme appartenant au genre *Fasciola*, probablement à l'espèce *F. hepatica*. Cette espèce nécessite un milieu inondé pour maintenir son cycle biologique, est majoritairement observée chez le mouton, la vache et la chèvre, mais peut également être observée chez le cheval, le lapin, le lièvre et occasionnellement d'autres mammifères dont l'humain (Taylor *et al.*, 2016).

Un deuxième Trématode a été observé dans un unique échantillon à Asi Gonia : la douve du rumen du genre *Paramphistomum*. Ces œufs ressemblent à ceux de *Fasciola* préalablement décrits, mais présentent de surcroît une surface granuleuse et un opercule crénelé comme noté précédemment par Le Bailly (2005). Deux spécimens ont été observés dans le même échantillon de la séquence analysée et avoisinent 156,5 x 94 µm. Ce Trématode infeste le système digestif de ruminants sauvages ou domestiques (Taylor *et al.*, 2016). Une description plus complète de ce parasite est consultable dans la partie IV du présent manuscrit.

Un morphotype du genre *Macracanthorhynchus* appartenant à la classe des Acanthocéphales a également été observé dans deux échantillons de la séquence. Ces œufs sont de forme ovale et de couleur brune et opaque avoisinant 90-100 x 50-56 µm (Mehlhorn, 2001). La coque est composée de 4 épaisseurs souvent difficilement visibles dans des échantillons anciens, et d'une surface finement réticulée. L'espèce *M. hirudinaceus* est connue pour infester communément les intestins de suidés sauvages et domestiques et nécessite la présence de coléoptères coprophages pour maintenir son cycle (Taylor *et al.*, 2016). Pour une description détaillée du cycle biologique de ce parasite, il est possible de consulter la partie IV de ce manuscrit.

Le dernier morphotype à avoir été observé à Asi Gonia est de type Strongyle et n'a été observé qu'une seule fois. Ce morphotype englobe une très grande diversité de parasites de l'ancien ordre de Strongylidés. Ces œufs sont typiquement incolores, ovales, plus ou moins symétriques selon les espèces, non operculés, et présentent une coque fine et lisse. Un grand chevauchement de taille existe entre les œufs de différentes espèces, et il n'est généralement pas possible de les identifier spécifiquement sans connaître précisément l'origine biologique des restes (ce qui est possible lorsque les prélèvements sont pratiqués sur selles fraîches et que certains critères morphologiques disparus des spécimens anciens sont encore visibles comme le nombre de blastomères). L'identification précise de ce taxon à Asi Gonia dont l'œuf mesure 114 x 59 µm ne peut donc qu'être hautement spéculative. Les vers de type Strongyle sont présentés plus en détails dans la partie IV de ce manuscrit.

Préservation et distribution des œufs

L'état de préservation des œufs observés à Asi Gonia est globalement très bon. Seule une minorité de restes n'a pas pu être identifiée au niveau générique pour cause d'altération taphonomique trop importante (**Error! Reference source not found.**). Ainsi, la distinction des critères morphologiques d'identification et des altérations taphonomiques n'a pas représenté un challenge important dans cette étude. En dépit de cette bonne préservation, les bouchons polaires muqueux des spécimens de Trichocéphalidés ne sont globalement pas préservés, comme il est généralement observé en paléoparasitologie pour les œufs appartenant à cet ordre. De fait, les mesures de longueurs prises sur ces spécimens prendront systématiquement la distance séparant le bord des deux ouvertures opposées, et non pas le sommet des bouchons polaires disparus et comme il serait pratiqué dans des échantillons frais. Comme il a préalablement été noté par Dufour (2015), ces taxons apparaîtront logiquement un peu plus courts que leurs équivalents non dégradés.

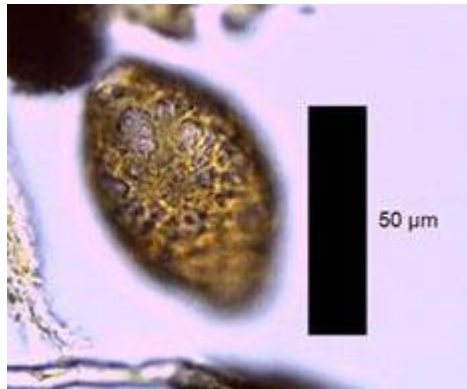


Figure 27 Oeuf de Trichocéphalidé fortement taphonomisé, observé dans la tourbière d'Asi Gonia. L'altération de la surface ne permet pas d'en déterminer plus précisément le genre.

Concernant la distribution des taxons le long de cette séquence, nous pensons que celle-ci n'est pas nécessairement dépendante du faible nombre de spécimens observé. Ce point fait l'objet de la discussion suivante par comparaison avec les autres proxys étudiés à cette occasion. Ce faible nombre total d'observations ne permet en revanche pas une approche quantitative stricte.

Le nombre d'œufs et le nombre de taxons par échantillon ne semble pas être dépendant de la profondeur des échantillons dans lesquels ils ont été dénombrés. Plusieurs de ces taxons se sont révélés très communs tout au long de la séquence, comme les œufs du genre *Capillaria* (présents dans 41% des échantillons et comptant pour 21 œufs sur un total de 58), alors que d'autres se sont montrés beaucoup plus rares, tels les œufs du genre *Fasciola*, *Ascaris*, de type Strongyle (un seul spécimen chacun), ou les œufs du genre *Paramphistomum* (deux spécimens).

Quatre phases d'assemblages parasites (AP) peuvent être visuellement distinguées. Les échantillons provenant de l'assemblage parasite 1 (AP1), datés du 1^{er} siècle avant notre ère au 4^{ème} siècle de notre ère, contiennent un nombre relativement important d'œufs ainsi qu'une importante diversité de taxons par échantillon comparés aux phases suivantes. Ces échantillons d'AP1 sont particulièrement marqués par la présence de morphotypes corrélés à la présence de suidés (*Trichuris* sp., *Macracanthorhynchus* sp.). Durant AP2, daté du 4^{ème} au 10^{ème} siècle de notre ère, la quantité d'œufs d'helminthes ainsi que la diversité des morphotypes semblent toutes deux décroître, si bien qu'aucun œuf n'est observé dans les deux derniers échantillons de la phase. La période suivante d'AP3, s'étendant du 10^{ème} au 19^{ème} siècles, est caractérisée par une augmentation de la diversité parasitaire vis-à-vis d'AP2 et est marquée par l'apparition de morphotypes corrélés à la présence d'animaux ruminants (*Fasciola* sp. et *Paramphistomum* sp.). Finalement, les échantillons de la phase AP4 contiennent très peu ou pas du tout d'œufs d'helminthes.

Discussion

Comparaison de la paléodiversité parasitaire observée à Asi Gonia avec le registre zoo-archéozoologique en Crète

La présence d'hôtes potentiels dans une région est l'une des principales causes de présence parasitaire. Ainsi, à l'échelle mondiale, la diversité animale est l'un des premiers facteurs de diversité parasitaire. On peut donc utiliser la diversité parasitaire comme proxy de la diversité animale dans l'environnement local de la tourbière d'Asi Gonia. Pour cette raison, il est intéressant de passer en revue les données zoologiques et archéozoologiques en Crète afin de les comparer au spectre d'hôtes putatifs que nous pouvons déduire de notre spectre parasitaire.

La diversité animale en mer Egée n'a pas été étudiée jusqu'à une époque récente et est encore relativement mal connue (Masseti, 2012). En Crète, la faune pléistocène s'illustre par une faible diversité mammalienne marquée par quelques espèces endémiques caractérisées par le nanisme insulaire comme dans le cas d'*Hippopotamus creutzburgi* (Vigne, 1999 ; Masseti, 2012). La diversité mammalienne holocène est bien plus étendue, mais aucune espèce pléistocène ne semble avoir participé à ce pool, à l'exception de la musaraigne crétoise endémique, *Crocidura zimmermanni* (Vigne, 1999). Cette diversité animale plus large durant l'Holocène s'explique par l'importation d'espèces continentales par les colons humains depuis le Néolithique, fussent-elles sauvages ou domestiques (Vigne, 1999 ; Mavridis, 2003).

Certaines de ces espèces importées sont par la suite retournées à la vie sauvage telle la chèvre crétoise *agrimi*, *Capra aegragus*, endémique de l'île.

Ces considérations donnent un certain éclairage à la diversité parasitaire observée à Asi Gonia, essentiellement corrélée à la présence de suidés (*Trichuris* sp., probablement *T. suis*, *Ascaris* sp., probablement *A. suum*, et *Macracanthorhynchus* sp., probablement *M. hirudinaceus*) et de ruminants, principalement mouton, chèvre et vache (*Fasciola* sp., probablement *F. hepatica*, et *Paramphistomum* sp.). La faune aviaire pourrait en partie avoir participé à la dissémination du spectre parasitaire observé, bien que cela soit plus difficile à déterminer avec certitude, notamment par la présence de Capillaridés.

Les parasites corrélés à la présence de suidés caractérisent la phase la plus ancienne de la séquence à Asi Gonia, mais aucune distinction ne peut être faite entre les parasites ayant infesté des suidés sauvages et ceux ayant infesté des suidés domestiques. Il est dès lors intéressant de souligner que le sanglier *Sus scrofa scrofa* n'est actuellement pas présent en Crète et qu'il n'a pas été formellement identifié non plus dans le registre archéozoologique (Vigne, 1999). En revanche, le cochon domestique, *Sus scrofa domesticus* à lui, bien été identifié dans le registre archéozoologique crétois (Vigne, 1999). Si des doutes peuvent persister sur la présence de sangliers en Crète durant l'époque minoenne (pré-datant donc largement notre séquence), Nobis (1993) a suggéré qu'il pouvait s'agir de cochons domestiques particulièrement robustes élevés durant cette période économiquement faste. Le chien domestique, *Canis familiaris*, également attesté sur l'île au moins à l'époque minoenne (Vigne, 1999) est connu pour être un hôte occasionnel de *Macracanthorhynchus* sp. (Taylor et al., 2016). Cependant, l'identification dans notre séquence d'autres parasites corrélés à la présence de suidés ainsi que la complète absence de parasites de carnivores nous incitent à penser que cette hypothèse est ici très improbable et que la première phase de notre séquence (AP1) est effectivement caractérisée par la présence de parasites de suidés, notablement de

l'Acantochépalé, et qu'elle fournit une preuve forte d'élevage de cochons domestiques dans le bassin versant d'Asi Gonia à l'époque romaine.

Les mammifères herbivores constituent le deuxième groupe d'hôtes le plus important révélé par le spectre parasitaire observé à Asi Gonia, comme en atteste la présence de *Fasciola* sp. et *Paramphistomum* sp. respectivement observés au 10^{ème} et au 16^{ème} siècles de notre ère (AP3). À nouveau, la distinction entre parasites d'hôtes sauvages ou hôtes domestiques ne peut pas être déduite des seules données paléoparasitologiques. Comme il a été précédemment mentionné, tous les herbivores natifs de Crète pléistocène, comme le cervidé *Candiacervus ropalophorus*, étaient déjà éteints au commencement de l'Holocène (Vigne, 1999). Les herbivores sauvages ont été réintroduits durant l'Holocène par les colons humains, notamment le cerf rouge *Cervus elaphus* et le daim européen *Dama dama* (Masseti, 2012). Cependant, ces espèces ont soit disparu avant la séquence considérée et la turbigenèse à Asi Gonia, soit apparaissent être des hôtes très accidentels des parasites considérés comme dans le cas de la fasciolose du daim européen (Pybus, 2001). Les herbivores domestiques sont en revanche bien attestés dans le registre archéozoologique depuis l'époque romaine et plus tard, à savoir *Bos taurus*, *Capra hircus* et *Ovis aries*. Contrairement au daim européen, ces espèces sont des hôtes majeurs et courants des parasites observés à Asi Gonia. L'incertitude demeure concernant la chèvre sauvage *Capra aegragus* qui pourrait certainement avoir participé à la dissémination de ces parasites. Le registre archéozoologique crétois atteste également de la présence sur l'île aux époques considérées d'autres animaux domestiques ayant pu contribuer à ce spectre parasitaire, à savoir le cheval et l'âne, *Equus caballus* et *Equus asinus*. Le lièvre du genre *Lepus* est également connu pour être un hôte potentiel de la douve du foie *Fasciola hepatica*, et a été identifié dans le registre archéozoologique crétois. Il pourrait avoir joué le rôle de réservoir sauvage pour *Fasciola* sp. sur l'île. Une telle possibilité semble plus incertaine pour le lapin *Oryctolagus cuniculus* dont les restes n'ont jusqu'à présent été identifiés que sur certains îlots des côtes crétoises à partir de l'époque romaine tardive (Vigne, 1999). Cependant, même en considérant que le genre *Fasciola* observé à Asi Gonia pourrait avoir été disséminé par des lièvres sauvages, il aurait dans ce cas très certainement contribué à l'entretien du cycle biologique domestique du parasite au contact des animaux d'élevage présents dans le bassin versant. En effet, *Fasciola hepatica* n'est pas connu pour maintenir aisément un cycle sauvage chez des animaux comme le lièvre en l'absence d'un cycle domestique proche chez des animaux d'élevage (Pybus, 2001).

Le registre archéozoologique crétois montre enfin une large diversité de mammifères sauvages tels le blaireau, le rat, le chat crétois, le hérisson ou la musaraigne. Cette diversité animale peut également avoir participé occasionnellement à la constitution du spectre parasitaire observé à Asi Gonia, notablement par la présence de certains Capillaridés dont il n'est pas possible en l'état d'en déterminer les espèces et donc les spectres d'hôtes précis.

La comparaison de ces deux jeux de données, à savoir le corpus zoo et archéozoologique crétois, et le spectre parasitaire observé dans la séquence de la tourbière d'Asi Gonia, permet de mieux cerner *in fine* le spectre animal responsable de la présence de ce spectre parasitaire, et met en lumière la présence d'animaux domestiques dans le bassin versant ces 2000 dernières années.

Espèce	Nom vernaculaire	Traces de présence
<i>Sus scrofa scrofa</i>	Sanglier	Disparu avant l'époque romaine
<i>Cervus elaphus</i>	Cerf élaphe	
<i>Vulpes vulpes</i>	Renard roux	Disparu depuis l'époque romaine
<i>Eliomys quercinus</i>	Lérot commun	Connu avant l'époque romaine
<i>Equus caballus</i>	Cheval	
<i>Suncus etruscus</i>	Pachyure / musaraigne étrusque	
<i>Crocidura suaveolens</i>	Crocidure / musaraigne des jardins	
<i>Erinaceus concolor</i>	Hérisson d'Europe orientale	
<i>Lepus sp.</i>	Lièvre	
<i>Equus asinus</i>	Âne commun	
<i>Mus musculus domesticus</i>	Souris grise / domestique / commune	
<i>Martes cf. foina</i>	Fouine	
<i>Meles meles arcinus</i>	Blaireau européen	
<i>Canis familiaris</i>	Chien	
<i>Bos taurus</i>	Bovin de l'ancien monde	
<i>Sus scrofa domesticus</i>	Porc / cochon domestique	
<i>Capra aegagrus</i>	Chèvre	
<i>Capra hircus</i>	Chèvre domestique	
<i>Ovis aries</i>	Mouton	
<i>Crocidura zimmermanni</i>	Musaraigne crétoise	Connu depuis l'époque romaine
<i>Rattus rattus</i>	Rat noir / des greniers / des champs	
<i>Felis silvestris agrius</i>	Chat sauvage crétois	
<i>Felis catus</i>	Chat domestique	Disparu depuis la période arabe
<i>Dama dama</i>	Daim européen	
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Lapin de garenne / commun	Connu depuis l'Antiquité tardive
<i>Rattus norvegicus</i>	Rat brun / surmulot	Connu depuis l'époque moderne
<i>Glis glis</i>	Loir gris	
<i>Apodemus sylvaticus</i>	Mulot / souris sylvestre	
<i>Apodemus mystacinus</i>	Souris	
<i>Mustela sp.</i>	Divers espèces dont la belette	
<i>Acomys cahirinus minou</i>	Souris épineuse crétoise	

Tableau 9 Registre archéozoologique en Crète, d'après Vigne, 1999.

Comparaison des données paléoparasitologiques de la séquence d'Asi Gonia avec les phases environnementales et les indicateurs de pastoralisme : reconstruction paléoenvironnementale et gestion du territoire

L'analyse multi-proxy préalablement conduite à Asi Gonia (Jouffroy-Bapicot *et al.*, 2016) a permis de produire une reconstruction de la trajectoire de l'écosystème méditerranéen du bassin versant de la tourbière avec une haute résolution temporelle. L'analyse des grains de pollen a ainsi permis de mettre en évidence trois phases principales dans l'histoire du paysage : 1) une première phase dominée par la forêt de chênes verts entre 100 avant notre ère et 850 de notre ère ; 2) remplacée par la suite par une deuxième phase de bruyère arbustive entre 850 et 1870 ; 3) et enfin le développement d'une troisième phase caractérisée par la steppe de phrygane toujours visible aujourd'hui.

L'analyse des spores de champignons pointe quant à elle vers une importante pression pastorale à proximité immédiate de la tourbière. Le pastoralisme pourrait donc avoir joué un rôle significatif dans la formation de cette tourbière et l'histoire du paysage localement. En effet, la plupart des taxons identifiés s'avèrent être des espèces saprophytes et/ou coprophiles dont la croissance est rendue possible par un substrat de déjections de mammifères herbivores, telles *Sporormiella*-, *Sordaria*-, *Podospora*- ou les spores de type *Arnium*. L'interprétation de l'accumulation de ces spores de champignons avait préalablement été faite au regard des zones polliniques observées dans la séquence (Jouffroy-Bapicot *et al.*, 2016). Plus récemment (Roche *et al.*, 2020), une analyse de cluster des influx des différentes spores observées a été réalisée à l'aide du module CONISS du logiciel Tilia Graph (Grimm 1991-1993) (**Figure 28**). Les résultats mettent en évidence quatre phases principales d'influx ou zones fongiques (ZF). ZF1, entre 100 avant notre ère et 650 de notre ère, est ainsi caractérisée par de forts influx (exprimés en nombre de spores par cm³ et par an) et une haute diversité de spores de champignons coprophiles. Influx et diversité décroissent dans un second temps après 500 de notre ère. Dans la phase ZF2, de 650 à 950, les spores de champignons sont rares et leur diversité est faible. Quantité et diversité s'élèvent à nouveau dans la phase ZF3 de 950 à 1850. Finalement, ZF4 de 1850 à nos jours est caractérisée par un accroissement du nombre de spores de champignons coprophiles depuis de faibles valeurs au début de la période jusqu'au maximum observé dans la séquence à la surface de la tourbière.

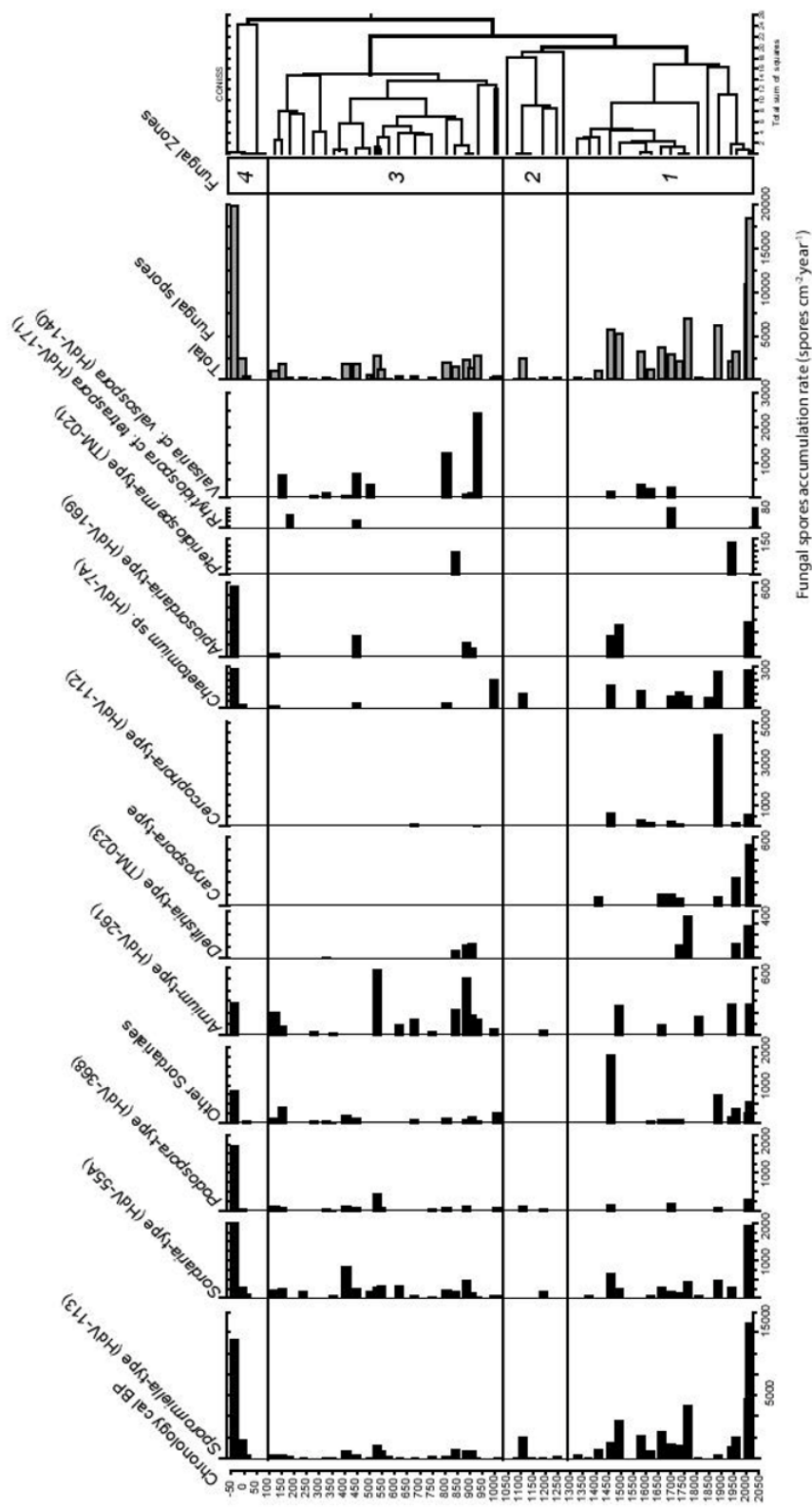


Figure 28 Analyse de cluster stratigraphiquement contrainte des influx de spores de champignons (réalisée avec le module CONISS de Talia Graph, Grimm 1991-1993, par Isabelle Jouffroy-Bapicot, Roche *et al.*, 2020).

Durant la période correspondant à l'assemblage parasitaire 1 (AP1), qui s'étend de 100 avant notre ère à 380 de notre ère (période romaine), la diversité des morphotypes parasitaires par échantillon ainsi que celles des spores de champignons coprophiles atteignent leur maximum dans la séquence (**Figure 29**). Dans leur papier, Jouffroy-Bapicot *et al.* (2016) avaient déjà pointé l'importance du pastoralisme dans les montagnes crétoises à l'époque romaine. Des valeurs d'influx élevées induisent ici une haute densité de mammifères herbivores, probablement en lien avec les élevages locaux de bétail (vache, mouton et chèvre) plutôt qu'avec la faune sauvage (Gill *et al.*, 2013; Baker *et al.*, 2016; van Asperen *et al.*, 2019). L'approche paléoparasitologique apporte un nouvel élément par la détection de parasites de suidés, et *a fortiori* la présence et l'élevage de ces animaux à proximité immédiate de la tourbière durant l'époque romaine. Le commerce de produits issus de l'élevage du mouton et de la chèvre (laine, lait, cuir) est bien attesté historiquement en Crète pendant l'époque romaine (Chaniotis, 1999), alors que l'élevage de cochon est très peu connu. Les suidés ayant disséminé ces parasites pourraient avoir été élevés dans la forêt de chênes verts dominant alors le paysage (Jouffroy-Bapicot *et al.*, 2016) et nourris au gland, un mode d'élevage des porcs toujours pratiqué de nos jours dans le bassin méditerranéen.

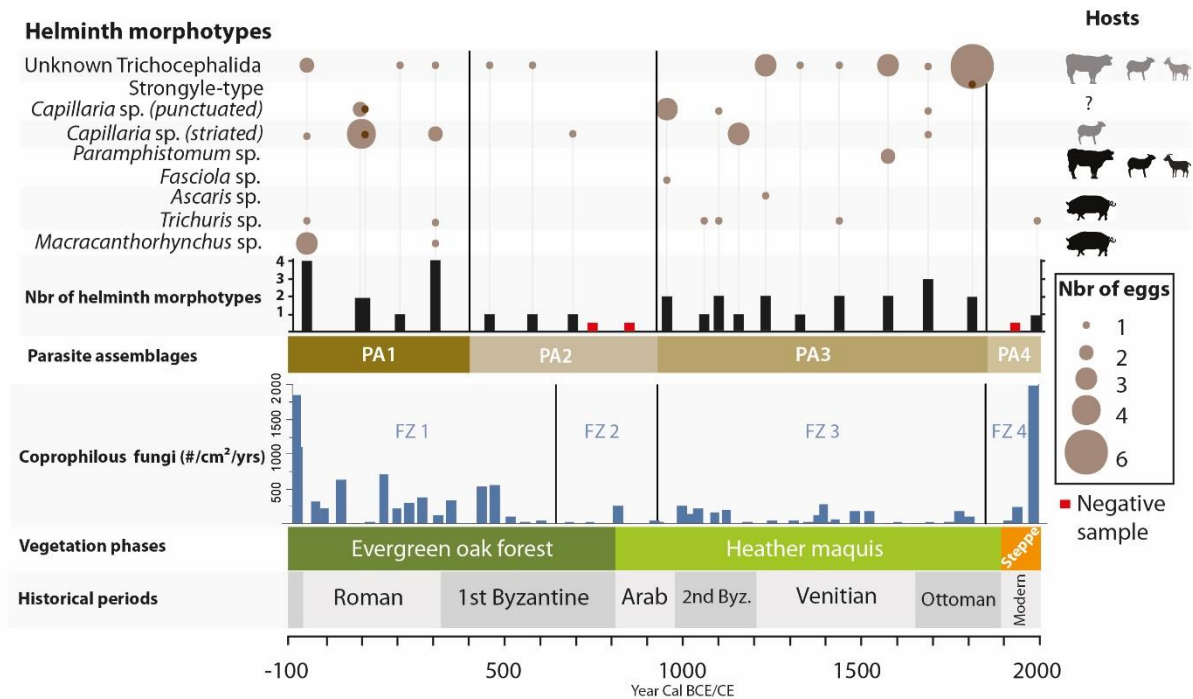


Figure 29 Synthèse des résultats paléoparasitologiques confrontés aux influx de spores de champignons et aux zones polliniques préalablement déterminées. La ligne du haut correspond à la diversité et au nombre d'œufs observés par échantillon (cercles bruns) et aux assemblages parasitaires (PA1-4) déterminés visuellement (barres brunes horizontales) ; suivi des influx totaux de spores de champignons (barres bleues verticales) et des zones fongiques déterminées statistiquement ; des zones polliniques (barres horizontales vertes et orange), d'après Jouffroy-Bapicot *et al.*, 2016, et des périodes historiques de la Crète comprises par la séquence étudiée (barres horizontales grises). Les hôtes animaux grisés représentent des identifications incertaines. Les barres rouges indiquent les échantillons négatifs après examen paléoparasitologique (Roche *et al.*, 2020).

La période correspondant à l'AP2 entre 380 et 900, et durant laquelle une chute de la diversité parasitaire est observée jusqu'à ne plus retrouver aucun parasite dans ses deux derniers échantillons est associée à un déclin similaire des spores de champignons coprophiles après 500 de notre ère (c'est-à-dire dans la deuxième moitié de ZF1). Ainsi, le début de AP2 (l'assemblage parasitaire) précède le début de ZF2 (la zone fongique). Cependant, ces deux phases semblent se terminer en même temps autour de l'an 900. Entre 400 et 900, les restes de parasites et de champignons suggèrent ainsi une fréquentation animale moindre que durant la période précédente, ayant probablement pour origine un affaiblissement de la pression pastorale localement durant la première époque byzantine et le début de la période musulmane. Une exception peut être observée par un accroissement ponctuel et isolé des spores de champignons autour de l'an 800, qui est une période charnière importante aussi bien en termes écologiques (passage de la forêt de chênes verts à la bruyère arbustive) que culturels (conquête arabe de l'île).

La période correspondant à l'AP3 entre 900 et 1850 montre quant à elle un accroissement concomitant et soudain des marqueurs parasitaires et des spores de champignons. Durant cette période, le spectre parasitaire est marqué par l'apparition des Trématodes *Fasciola* sp. et *Paramphistomum* sp., fortement associés à la présence de ruminants. Durant la même

période, les influx de spores de champignons restent moins élevés que durant la période romaine et varient au cours du temps. Ainsi, la pression animale semble avoir varié d'intensité durant la seconde période byzantine, ainsi que les périodes vénitienne et ottomane. Il est cependant important de souligner que tous les échantillons ont été testés positifs à la présence de parasites durant cette période. Le paysage reste lui marqué par la bruyère. Cette observation suggère que l'activité agropastorale ou bien a participé au maintien de ce paysage, ou *a minima* n'a pas nui à la persistance de ce couvert végétal.

Les premiers temps de la dernière période (AP4) qui débute au milieu du 19^{ème} siècle, montrent une nouvelle chute des spores de champignons concomitamment à l'absence de restes parasitaires. Dans le même temps, le paysage est marqué par le passage de la bruyère arbustive à la steppe méditerranéenne. La fin de la période, correspondant à la surface de la tourbière et à l'époque actuelle, montre finalement de très forts influx de spores de champignons, mais une quasi stérilité en termes d'œufs d'helminthes. Les traitements vétérinaires mis en place au 20^{ème} siècle expliquent probablement cette quasi absence en dépit de très forts signaux de pastoralisme. Les fèces fraîches de moutons récoltées à la surface de la tourbière n'ont donné lieu à l'observation d'aucune espèce d'helminthes, et corroborent cette hypothèse.

Il est intéressant de faire remarquer qu'aucun parasite corrélé à la présence de suidés n'a été observé durant la période arabe et ottomane, alors que les parasites de ruminants étaient, eux, bien présents à cette période. Le contexte politique et culturel pourrait alors avoir conduit à des pratiques agro-pastorales particulières dans la région d'Asi Gonia incluant un déclin de l'élevage du porc. Une telle hypothèse nécessiterait cependant beaucoup plus d'observations afin d'être véritablement testée (Harris, 1987).

Conclusion

Ce chapitre a présenté les résultats de notre étude exploratoire de la paléoparasitologie en contexte d'archive naturelle et plus précisément de tourbière. Il s'agit à notre connaissance de la première étude de ce type par ailleurs intégrée à une approche multi-proxy de haute résolution. Nous avons identifié 9 morphotypes d'helminthes tout au long de cette séquence sédimentaire, desquels il a été possible de discerner plusieurs assemblages chronologiques corrélés aux indicateurs de végétation (grains de pollen) et de pastoralisme (spores de champignons coprophiles).

Quatre phases principales ont pu être identifiées à travers le temps dans la séquence d'Asi Gonia, dont trois sont caractérisées par la concomitance des marqueurs parasitaires et fongiques d'élevage de bétail. La première correspond à l'époque romaine et à l'élevage de suidés dans la forêt de chênes verts. La deuxième correspond à la présence constante, mais semble-t-il irrégulière, de ruminants dans un paysage de bruyère arbustive de la seconde période byzantine à l'époque moderne. Finalement, la période contemporaine est marquée par un accroissement important de l'influx de spores de champignons, mais une très faible présence parasitaire, résultant probablement de l'élevage moderne d'animaux traités contre le parasitisme. Une quatrième phase s'étendant du milieu du 4^{ème} siècle au 9^{ème} siècle de notre ère correspond à une période de déprise du pastoralisme localement au regard des différents marqueurs. Les points de bascule d'écosystèmes (entre la forêt de chênes verts et la bruyère arbustive et entre cette dernière et la steppe méditerranéenne) coïncident remarquablement aux échantillons n'ayant livré aucun œuf de parasite ainsi qu'à de très faibles influx de spores de champignons coprophiles. Ces observations pourraient indiquer que depuis l'époque

romaine jusqu'au 20^{ème} siècle, le pastoralisme local pourrait avoir été un facteur de maintien de ces différents écosystèmes plutôt qu'un facteur de changement.

Cette étude pilote devrait encourager les paléoparasitologues et les autres paléoécologues à entreprendre des analyses paléoparasitologiques systématiques et suivant les standards de la discipline dans les études de carottes sédimentaires en contexte de tourbière. Les améliorations d'une telle approche sont évidemment envisageables de sorte à en fiabiliser les interprétations à l'avenir, telles que le prélèvement de plusieurs carottes en différents points d'une même tourbière afin d'y contrôler la distribution des restes et la pertinence des assemblages observés, ainsi que la prise en compte du taux de sédimentation afin d'affiner la résolution de ces assemblages. Une telle approche pourrait de surcroît être étendue de manière systématique aux autres milieux humides naturels ou d'origine anthropique. En dépit de ses limites, la présente étude contribue néanmoins à une meilleure connaissance des pratiques d'élevage et de leur impact en relation avec l'évolution du paysage au cours du temps dans les montagnes crétoises.

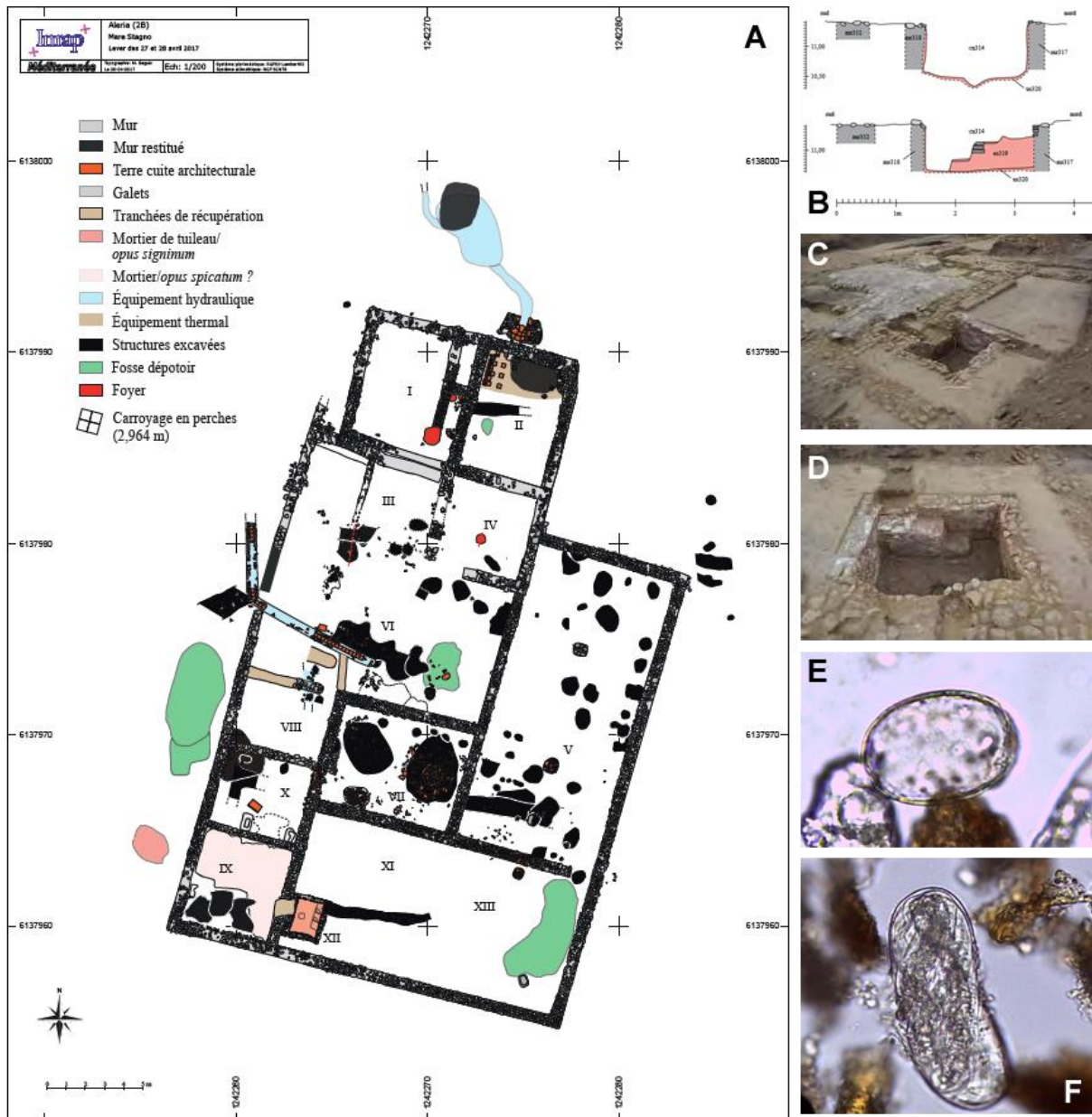
Cette approche s'accorde bien avec le cadre conceptuel de la pathoécologie forgé par Martinson et ses collègues (2003), et développé à plusieurs occasions depuis (Reinhard, 2008; Arriaza *et al.*, 2010; Gonzalez *et al.*, 2010; Reinhard & Araujo, 2015). Il est en effet possible d'étudier la gestion du territoire et les activités pastorales à travers le temps et d'inférer par la même occasion les changements d'écologie parasitaire chez les animaux d'élevages et les sociétés humaines qui y sont associées et les conséquences de ces rapports en termes de santé et d'économie.

Chapitre 4 : Les autres sites étudiés

Les autres sites de notre inventaire ont fait l'objet de prélèvements ou d'analyses plus restreintes. Leurs résultats, relativement homogènes, sont compilés dans le présent chapitre. Il s'agit des sites de Mare Stagno en Corse, La Biagiola en Italie, Kardamaina en Grèce, Labraunda en Turquie, Utique en Tunisie, Pollentia et Baelo Claudia en Espagne.

Mare Stagno (France, Corse)

Seuls 2 échantillons se sont révélés positifs sous microscope, provenant tous deux de la cuve Cu314 et correspondant vraisemblablement à des couches d'abandon post-datant l'utilisation de cette cuve (**Figure 30**). Il est dès lors probable que les très rares œufs observés, identifiables comme appartenant au type Ascaridé et Strongyle, ne correspondent qu'à des pollutions ponctuelles associées aux matériaux de remblais plutôt qu'à une réutilisation véritablement soutenue de cette cuve. La grande taille des œufs de type Strongyle les rend par ailleurs difficilement associables à l'hôte humain.



Étonnement, aucun autre échantillon de ce site, pourtant bien préservé, extensivement fouillé, comportant de nombreuses fosses et canalisations échantillonnées, n'a donné lieu à la moindre observation sous microscope. Il est possible que les zones destinées à ce genre de déchets restent à découvrir.

La Biagiola (Italie, Latium)

Sur les 10 individus ayant fait l'objet de prélèvements lors de la fouille de l'espace funéraire associé à cette ferme lombarde ou anciennement fouillés et dont les restes étaient entreposés au musée de Sorano, 9 se sont révélés positifs, soit à des spécimens de type Ascaridé qu'il est raisonnable d'associer à *Ascaris lumbricoides*, soit des spécimens directement indentifiables comme *Ascaris* sp. et correspondant également à *A. lumbricoides* ; soit des spécimens de type Strongyle de petite taille qu'il est vraisemblable d'associer à une espèce parasitant les humains comme le genre *Strongyloides* (Figure 31, Figure 32 et Figure 33).



Figure 31 Panorama du site de La Biagiola (photo : Luca M. Nejjrotti).

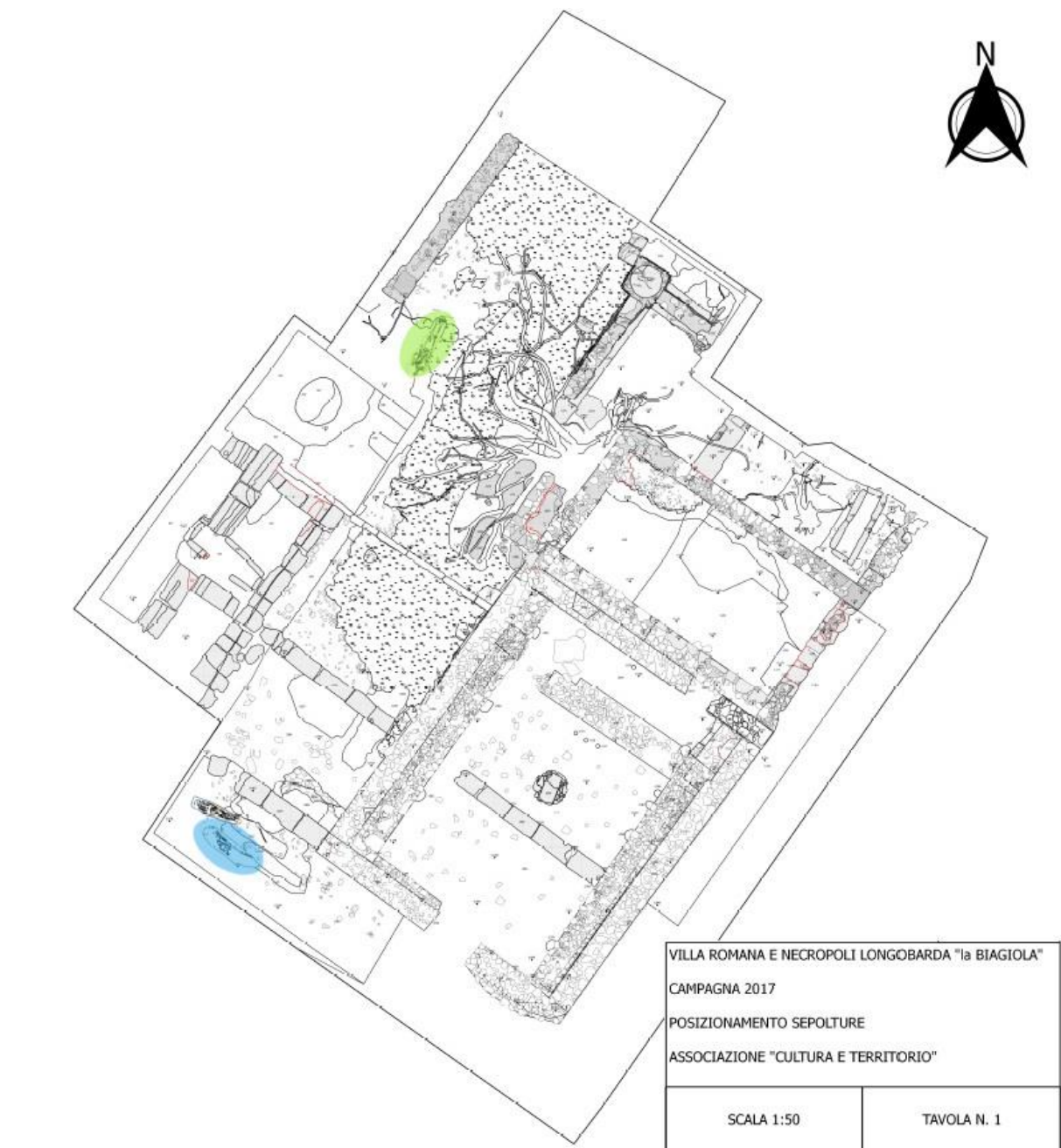


Figure 32 La Biagiola, localisation des tombes échantillonnées lors de la campagne 2017, Bleu : T17_02, vert : T17_01. Plan par Riccardo Rossi, modifié par KR.

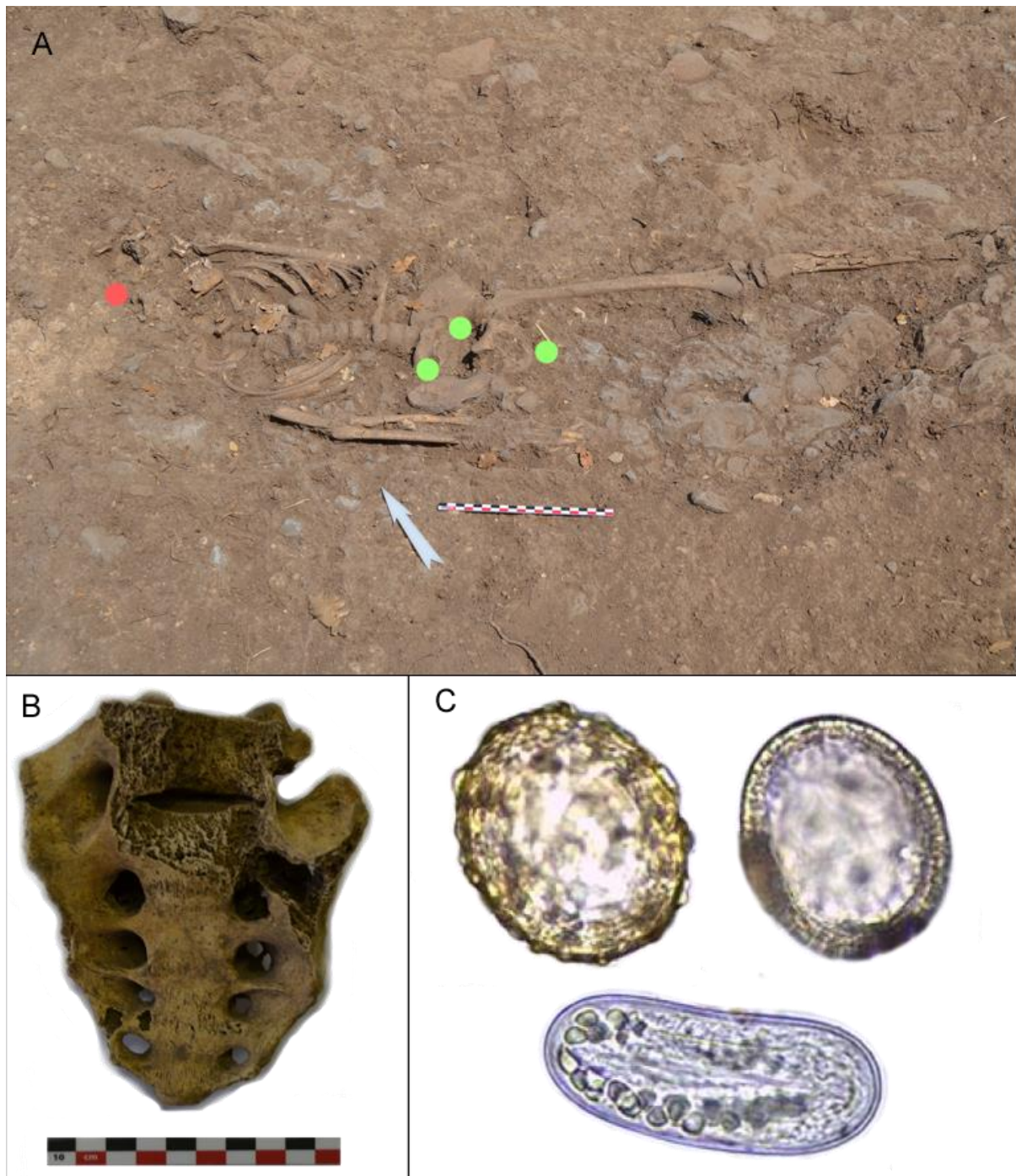


Figure 33 A Individu T17_02 montrant les zones de prélèvement lors de la fouille. En vert figurent les échantillons collectés au contact des os de la ceinture pelvienne et entre les fémurs proximaux. En rouge figure un échantillon de contrôle prélevé au niveau de la tête. Echelle : 20 cm. B L'un des sacrus ayant fait l'objet d'un échantillonnage de sédiment résiduel après sa déposition et son nettoyage par l'équipe de fouille. Bien que cela ne soit pas toujours évident, il est possible de collecter du sédiment dans les foramens sacrés et le canal sacral en quantité suffisante même après lavage. C : œufs observés à la Biagiola, en haut à gauche, *Ascaris* sp., certainement *Ascaris lumbricoides*, dont la coque utérine est complètement préservée, ainsi que, semble-t-il, le juvénile présent à l'intérieur de l'œuf, 63 x 54 μm , x400, échantillon LB1708 ; en haut à droite, un œuf de type Ascaridé, complètement décortiqué et au volume interne vide, 58 x 48 μm , x400, échantillon LB1707 ; en bas œuf de type Strongyle à la coque externe parfaitement préservée et au juvénile clairement visible, 78 x 32, x400, échantillon LB1702.

L'un des échantillons de contrôle, collecté au niveau des pieds de l'individu T17_01 US 1295 a donné lieu à l'observation de 2 œufs de type Ascaridé, dénotant probablement un effet de pendage ou un écoulement des fluides de décomposition. Les plus fortes concentrations d'œufs ont néanmoins été observées au contact de sacrum, dont deux d'entre eux ont été curés au musée de Sorano plusieurs années après leur découverte, alors que le troisième l'a été *in situ* au cours de sa fouille.

Le remaniement de la terre de cet espace funéraire de taille modeste lors de l'inhumation de nouveaux individus n'est pas à exclure, et pourrait participer à grossir artificiellement la fréquence élevée du parasitisme au sein de cette petite population (90 %). Les deux autres échantillons de contrôle n'ont cependant donné lieu à aucune observation d'œufs sous microscope.

La découverte d'œufs sur des spécimens muséaux, anciennement lavés et stockés, est particulièrement intéressante et confirme des observations similaires préalablement publiées. Ce type d'observations, en dépit de leurs biais (le lavage a-t-il provoqué des pollutions croisées entre différents individus lavés dans une même bassine ?) plaide clairement en faveur de l'étude systématique des restes bioarchéologiques anciennement découverts et stockés, notamment pour des sites dont les fouilles ne sont plus possibles.

Kardamaina (Grèce, Kos)

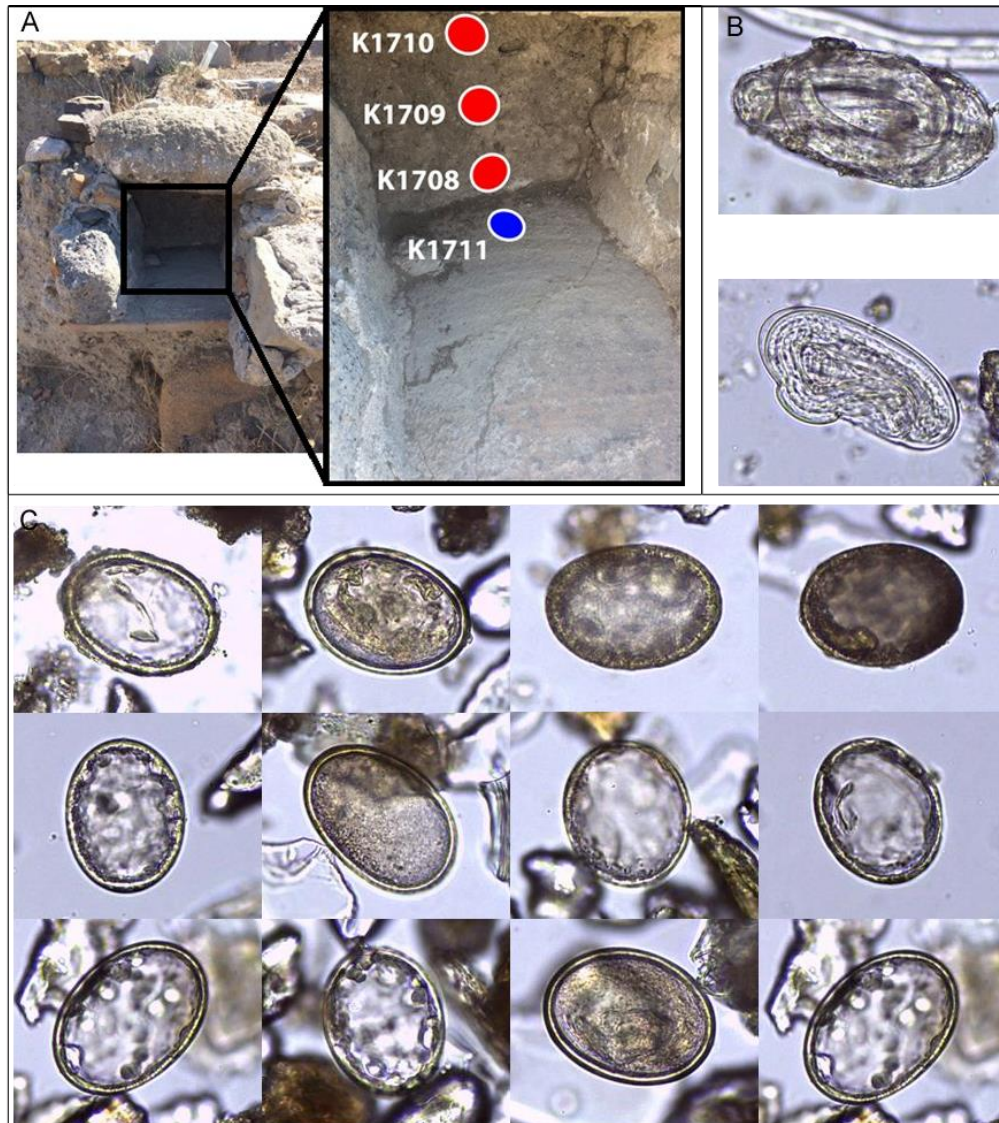
Sur le site de Kardamaina, 7 des 9 échantillons collectés dans des canalisations à la fonction incertaine ont donné lieu à l'observation de plus d'une centaine d'œufs de parasites, majoritairement de type Ascaridé, dont certains possédaient encore des restes de coque externe, rendant l'ensemble associable au genre *Ascaris* sp., probablement *A. lumbricoides* au regard du contexte anthropique. Quatre spécimens de type Strongyle et de taille variable ont également été observés. Il demeure extrêmement spéculatif de les associer à une quelconque espèce touchant l'hôte humain ou d'autres animaux (**Figure 34**).



Figure 34 Plan diachronique de Kardamaina. Les zones jaunes, initialement repérées par les archéologues, n'ont pas systématiquement donné lieu à des prélèvements après vérification. En revanche, notre présence sur le terrain a permis d'identifier d'autres zones de prélèvement. En vert, les échantillons positifs, en rouge, les échantillons négatifs.

Il est à noter que la plupart des échantillons provenaient de structures anciennement fouillées et rouvertes à l'occasion de ce prélèvement paléoparasitologique. Lors de cette opération, l'une de ces canalisations, dans la zone K28 2001 / 2011, a révélé la bordure des fouilles anciennes,

dans laquelle il était toujours possible de rafraîchir la coupe stratigraphique afin de collecter des échantillons dans la portion de canalisation non fouillée et toujours munie de sa dalle de couverture. Les 3 échantillons prélevés en colonne dans cette canalisation ont livré le plus grand nombre d'œufs de type Ascaridé, en tous points semblables à ceux qui étaient observés dans les structures anciennement fouillées et parfois exposées aux intempéries depuis lors (Figure 35).



Ce type d'observations, montrant une concordance certaine entre les résultats provenant de coupes stratigraphiques fraîches d'une part, et de structures anciennement fouillées d'autre part, tendent clairement à accréditer l'intérêt de la réévaluation des sites anciennement fouillés pour les recherches paléoparasitologiques, toujours susceptibles de fournir des résultats et des échantillons qui n'ont pas pu être collectés à l'époque des fouilles.

Enfin, le grand nombre d'œufs de type Ascaridé, qui ont notamment été retrouvés dans les concrétions calcaires tapissant le fond de certaines de ces canalisations, pourraient indiquer que celles-ci conduisaient plutôt des eaux usées.

Labraunda (Turquie)

Un unique volume de plusieurs litres de sédiments et provenant d'une même structure, vraisemblablement une exèdre associée à des bains d'époque romaine, a fait l'objet de 8 sous-échantillonnages aléatoires à la recherche d'œufs d'helminthes. Tous les échantillons se sont révélés positifs, soit au genre *Ascaris* sp., soit au genre *Trichuris* sp.

L'assemblage de ces deux genres, cumulé à la taille des spécimens du second, associent clairement cette observation au rejet d'excréments humains. Leur découverte systématique dans les échantillons pris aléatoirement dans un si gros volume de sédiment dénote probablement un usage systématique plutôt que ponctuel de la structure à cette fin en ce qui concerne l'époque de constitution de la couche dont a été extrait ce sédiment.

Utique (Tunisie)

Ce sont 6 échantillons répartis dans 3 égouts qui ont été analysés à la recherche d'œufs d'helminthes sous microscope. Au total, 3 échantillons se sont révélés positifs, livrant des spécimens de type Ascaridé.

L'observation attendue de ce type de restes dans de telles structures confirme *a minima* leur interprétation comme étant des conduites d'eaux vraisemblablement usées.

Pollentia (Espagne, Majorque)

Sur les 23 échantillons analysés, 22 se sont révélés positifs, la plupart du temps aux œufs de type Ascaridé dont plus de 1300 spécimens ont été observés dans différentes canalisations de l'époque romaine impériale ainsi qu'une fosse de l'époque tardo-antique. L'association, certes en faible quantité, mais tout de même sans équivoque, d'œufs du genre *Trichuris* sp., signe sans aucun doute un spectre parasitaire typiquement associé à l'hôte humain (**Figure 36**).

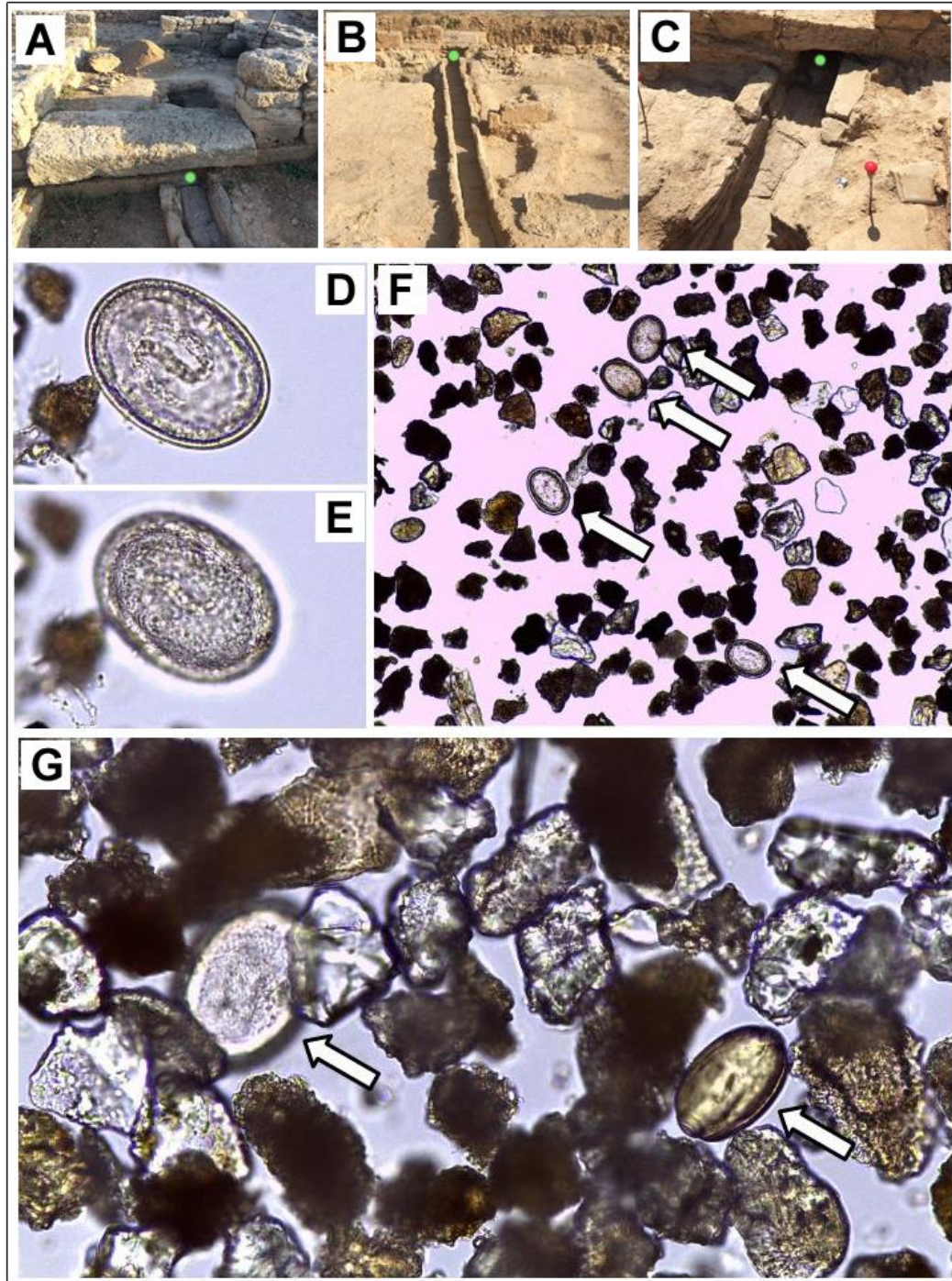


Figure 36 A-B-C : égouts échantillonnés à Pollentia dans les coupes stratigraphiques rafraîchie (A-B) ou nouvellement faites (C), respectivement dans la zone résidentielle probablement d'époque augustéenne, sur le Marcellum d'époque impériale, et dans la zone des fortifications, d'époque impériale. D-E : bien que systématiquement décortiqués, les œufs d'Ascaridés peuvent, comme les œufs de Strongyles observés sur d'autres sites (eg. Kardamaina) contenir des juvéniles relativement bien préservés. F-G : en dépit du mauvais état de conservation, certains échantillons, comme ici P1706 de l'US9492 correspondant à un égout romain dans la zone des fortifications, peut présenter un grand nombre d'œufs visibles simultanément (plus de 500 comptés dans l'ensemble de l'échantillon), voire plusieurs taxons (G : Ascaridé à gauche, et *Trichuris* sp. à droite).

La systématique des observations ainsi que le nombre de spécimens observés dans les canalisations d'époque impériale sont à mettre en rapport avec ce qui a pu être observé à plus grande échelle à Délos au chapitre 1 de cette partie III.

La concentration bien moins importante d'œufs de parasites dans les couches tardo-antiques, et la disparition du genre *Trichuris* de celles-ci, pourraient être associées à une déprise ou un abandon progressif de la zone à cette époque.

Baelo Claudia (Espagne)

Sur 22 échantillons collectés à Baelo Claudia, 13 ont livrés des œufs de type Ascaridé. Ces observations, lorsqu'associées à des structures préalablement interprétées comme des égouts d'époque augustéenne ou impériale, sont sans surprise.

Dans les cas des échantillons provenant respectivement de l'abside de l'édifice monumental au sud de la Grande *domus* et du comblement de l'aqueduc de Punta Paloma, ces observations tendent à indiquer que des activités se tenaient à leurs abords au moment de leur comblement, voire qu'ils ont intentionnellement été utilisés comme dépotoirs après leur abandon. Cette dernière hypothèse vient renforcer les analyses microgéomorphologiques préalablement faites au niveau de l'abside (**Figure 37**).

Étonnement, les échantillons provenant de la zone funéraire paléo-chrétienne située sur le trait de côte n'ont donné lieu à aucune observation sous microscope.



Figure 37 A : plan de Baelo Claudia à l'époque romaine (M. Fincker et V. Picard, IRAA). Les trois zones principales de prélèvement (1-3) indiquent respectivement l'aqueduc de Punta Paloma, le centre urbain autour de la Grande domus (indiquée en orange), et la nécropole sur le littoral. B : L'aqueduc de Punta Paloma arrivant dans Baelo Claudia par l'Est. C-D : canalisation romaine en amont de l'édifice monumentale, anciennement fouillée mais dont il a été possible de rafraîchir la coupe stratigraphique sous le dallage de couverture encore en place. E : sépulture T32, seul enfant échantonné, d'époque paléochrétienne. F : Œufs de type Ascaridé observés à Baelo Claudia. Le degré de dégradation et de minéralisation est variable, mais toujours important (~60 x 40 µm, x400).

Conclusion générale

Cette thèse s'est attachée à passer en revue les données paléoparasitologiques disponibles pour le pourtour méditerranéen durant l'Holocène, plus particulièrement pour une large période gréco-romaine. Cette revue a permis de montrer l'accumulation notable des données depuis la première observation attribuable à cette discipline en 1910 et portant justement sur l'espace méditerranéen. Nous avons mis en évidence la multiplicité des matériaux et des techniques employés, néanmoins dominés par la recherche d'helminthes en contexte sédimentaire sous microscope optique. En dépit de cette diversité, il a été notable de constater que toutes les parasitoses d'importance médicale actuellement connues ont été observées dans le registre subfossile de la région, et que les absences apparentes correspondaient à des biais sensiblement identifiables, comme les conditions de préservation, naturelles ou artificielles, ayant permis l'observation de parasites spécifiques (pensons aux filarioses repérées chez des momies égyptiennes). Si la diversité parasitaire observée apparaît, comme toute taphocénose, hautement parcellaire, elle n'en demeure pas moins conforme aux données de l'écologie parasitaire actuellement connue, et pourrait permettre, à l'avenir, des modélisations des dynamiques de radiations parasitaires, notamment à la faveur des peuplements humains du pourtour méditerranéen.

Cette revue a également mis en évidence la prédominance de la période gréco-romaine dans ce registre paléoparasitologique, autorisant une certaine estimation du fardeau parasitaire frappant les communautés humaines de cette époque, romaines notamment. Néanmoins, les études exhaustives demeurent rares alors que les données sont assez souvent le résultat d'analyses ponctuelles sur une multiplicité de sites archéologiques. L'étude exhaustive des latrines de Délos, dans les Cyclades, majoritairement datées de l'époque hellénistique et dans une moindre mesure de l'époque impériale, ont permis d'apporter des données empiriques sur l'universalité effective du fardeau parasitaire d'origine fécale dans ce type de communauté urbaine. Il s'agit de la première étude de ce type portant sur l'ensemble d'une cité ancienne. Les autres sites étudiés dans notre corpus ayant fait l'objet d'échantillonnages plus marginaux et de contextes similaires tendent à confirmer l'ubiquité de ce fardeau, comme nous l'avons vu par exemple dans les cités romaines de Baelo Claudia, Pollentia, ou Kardamaina. Nous avons également pu mettre en évidence que les sites et structures archéologiques anciennement fouillés et même laissés exposés aux intempéries depuis des décennies sont toujours susceptibles de fournir des restes paléoparasitologiques et ne devraient pas être négligés à ce motif, comme nous l'avons vu à Délos et Kardamaina. Dans des contextes similaires (structures archéologiques en contexte hautement anthropisé d'époque antique en Méditerranée), le degré de préservation des restes observés ne diffère pas sensiblement de ceux issus d'échantillons archéologiques « frais » collectés dans des structures en cours de fouille.

De manière inattendue, il est aussi apparu que les études exhaustives portant sur des collections ostéologiques demeurent également rares. Pourtant les découvertes de zones

funéraires ne manquent pas et les protocoles d'échantillonnages sont simples de mise en œuvre et peu coûteux. Il a de surcroît été confirmé, comme ce fut le cas pour les individus du site de La Biagiola et conservés au musée de Sorano, qu'il était toujours possible d'identifier des restes de parasites notamment sur les os coxaux anciennement fouillés et lavés. Contrairement aux études exhaustives à l'échelle d'un centre urbain comme nous l'avons vu à Délos, et permettant d'observer la distribution géographique des parasitoses au sein d'une communauté urbaine (ici uniformément répartie), l'étude de restes ostéologiques permet de meilleures estimations de la distribution interindividuelle des parasites au sein d'une population ancienne. Parmi le petit échantillon d'individus issus des sépultures de masse de la Galerie des Offices à Florence, environ 30 % se sont révélés porteurs de parasites, observation concordante avec les travaux récents de M. Ledger (Ledger *et al.*, 2021).

Néanmoins, la recherche d'ADN ancien dans un plus petit sous-groupe de la même population a notablement augmenté la fréquence de détection et la diversité des parasites détectés. Il a également été possible de détecter, par l'ADN, des parasites passés inaperçus sous microscope tout en offrant une meilleure précision diagnostique. Cette observation a été répétée sur le site de Délos, et concorde avec la littérature existante. La méthode employée s'avère peu coûteuse et peu technique (la simple recherche de cibles spécifiques par PCR simplex après extraction sur matrice sédimentaire). Sa systématisation en diagnostic de routine en paléoparasitologie pourrait très fortement enrichir le corpus actuellement connu et ce pour un coût relativement modique, à condition de pouvoir contrôler les risques de pollutions, qu'elles viennent du terrain (via la percolation d'ADN à travers différentes couches stratigraphiques) ou du laboratoire (via l'introduction d'amplicons préalablement produits). Comme il a déjà été proposé, la systématisation de la recherche d'ADN en paléoparasitologie devrait à l'avenir permettre à la discipline de s'emparer pleinement des problématiques relatives à la diversité moléculaire des parasites recherchés, à leur radiation, à leur hybridation à la faveur de niches partagées, au poids des activités humaines dans ces processus (domestication, commerce, agriculture, urbanisation, alimentation...), et à la détection de taxons peu ou pas observables par les méthodes classiques, comme les protozoaires.

La recherche systématique de formes de résistances parasitaires en contexte de tourbière, hors-site archéologique formellement identifié, est certainement l'aspect le plus original du présent manuscrit. Ne reposant sur aucune technique nouvelle (bien que la recherche d'ADN y ait été testée, sans succès), cette approche a permis d'étoffer la reconstruction paléoécologique du bassin versant d'Asi Gonia en Crète depuis l'époque romaine, parallèlement aux données palynologiques du site et zoo-archéozoologiques de l'île. Ces observations, bien que peu nombreuses, se sont révélées concordantes avec les autres indicateurs étudiés et ont permis d'éclairer le rôle de l'anthropisation du territoire dans la formation du paysage actuel et les changements environnementaux s'étant déroulés ces 2000 dernières années. L'apport de la paléoparasitologie en un tel contexte est prometteur, notamment au regard de l'excellente préservation des restes observés, tranchant radicalement avec les observations faites dans le reste de notre corpus, et probablement attribuable au contexte humide et d'altitude de ce site. L'observation d'un morphotype de Trichocéphalidé actuellement non documenté en parasitologie, observé uniquement en paléoparasitologie, atteste également de l'intérêt persistant de l'approche « classique » en microscopie optique, en dépit du développement des techniques moléculaires. La taxonomie exacte, l'écologie, le

spectre d'hôtes et la biologie de ce morphotype restent à découvrir alors que sa détection dans l'ensemble de la séquence d'Asi Gonia jusqu'au 19^{ème} siècle pourrait laisser penser que l'espèce circule toujours actuellement à l'état cryptique. L'approche demande maintenant à être répliquée, mieux contrôlée, et systématisée.

Les trois études de cas principales mises en avant dans ce travail illustrent afin l'importance d'une approche écologique et intégrative de la paléoparasitologie. En effet, nous avons essayé de montrer l'intérêt de varier les contextes de prélèvement, et si possible de les repérer sur un même site archéologique et ses abords. Cette approche n'est certes pas aisée, en témoigne la nécessité pour nous-même de la présenter au travers de trois sites différents, mettant en avant les apports complémentaires de chaque contexte, incluant le lieu de vie hautement anthropisé, la population archéologique, et l'arrière-pays n'ayant de naturel que l'apparence, mais en réalité fortement modelé par les activités humaines locales. Nous souhaitons qu'à l'avenir, des études paléoparasitologiques présentant cette variabilité de contextes de prélèvement puissent avoir lieu plus fréquemment, sur un même site, ou complexe de sites archéologiques. Une telle approche permettra d'appréhender autant que faire se peut l'écologie parasitaire connue par une communauté ancienne ou un ensemble de communautés, leurs causes et leurs conséquences en termes de modes de vie, de santé, et d'interactions avec leur environnement.

Bibliographie

Auteurs anciens

ARISTOTE, *Histoire des animaux*, Livre V, texte établi et traduit par P. LOUIS, Paris, Belles Lettres, 1969

ARISTOTE, *Histoire des animaux*, Livre VIII, texte établi et traduit par P. LEMAIRE, Paris, Belles Lettres, 1969

CAELIUS AURELIANUS, *On acute diseases and on chronic diseases*, texte établi et traduit par I.E. Drabkin, Chicago, The University of Chicago Press, 1950

CHIRON, *Mulomedicina Chironis*, texte établi par E. Oder, Leipzig, Teubner, 1901

COLUMELLE, *De l'agriculture*, Livre VI, texte établi et traduit par M. Louis Du Bois, Paris, C. L.F. Panckoucke, 1846

GALIEN, *Claudii Galeni Opera quae extant*, Volume XIV, texte établi par K. G. Kühn, Leipzig, 1828

HIPPOCRATE, *Des maladies*, Livre 4, texte établi et traduit par E. Littré, Paris, J. B. Baillière, 1831

HIPPOCRATE, *Les épidémies*, Livre II, texte établi et traduit par W. D. Smith, Cambridge, MA, Harvard University Press, 1994

HIPPOCRATE, *Les épidémies*, Livre IV, texte établi et traduit par W. D. Smith, Cambridge, MA, Harvard University Press, 1994

HIPPOCRATE, *Les épidémies*, Livre VI, texte établi et traduit par W. D. Smith, Cambridge, MA, Harvard University Press, 1994

JUVENAL, *Satires*, Livre III, texte établi et traduit par P. D. Labriolle et F. Villeneuve, Paris, Belles Lettres, 2002

ORIBASE, *Œuvres*, Livre IV, texte établi et traduit par C. V. Daremberg et U. C. Bussemaker, Paris, Imprimerie nationale, 1851

ORIBASE, *Œuvres*, Livre VIII, texte établi et traduit par C. V. Daremberg et U. C. Bussemaker, Paris, Imprimerie nationale, 1851

PLATON, *Critias*, texte établi et traduit par A. Rivaud, Paris, Belles Lettres, 1925

RUFUS D'EPHESE, *Œuvres*, texte établi et traduit par C. Daremberg et E. Ruelle, Paris, Imprimerie nationale, 1879

THUCYDIDE, *La Guerre du Péloponnèse*, texte établi et traduit par Jacqueline De Romilly, Paris, Belles Lettres, 1953

VEGECE, *Traduction d'anciens ouvrages latins relatifs à l'agriculture et à la médecine vétérinaire*, texte établi et traduit par M. Saboureux de la Bonnetrie, Paris, Fr. Didot, 1775

Auteurs modernes

- Allentoft ME; Collins M; Harker D; Haile J; Oskam CL; Hale ML; Campos PF; Samaniego JA; Gilbert MTP; Willerslev E; Zhang G; Scofield RP; Holdaway RN; Bunce M (2012). "The half-life of DNA in bone: measuring decay kinetics in 158 dated fossils". *Proceedings of the Royal Society B*. 279 (1748): 4724–33. doi:10.1098/rspb.2012.1745
- Anastasiou, E., Lorentz, K.O., Stein, G.J., Mitchell, P.D., 2014. Prehistoric schistosomiasis parasite found in the Middle East. *The Lancet Infectious Diseases*, 14(7), 553–554. doi: 10.1016/S1473-3099(14)70794-7
- Anastasiou, E., Mitchell, P.D., 2013a. Human intestinal parasites from a latrine in the 12th century Frankish castle of Saranda Kolones in Cyprus. *International Journal of Paleopathology*, 3(3):218-223. doi: 10.1016/j.ijpp.2013.04.003
- Anastasiou, E., Mitchell, P.D., 2013b. Simplifying the process for extracting parasitic worm eggs from cesspool and latrine sediments: a trial comparing the efficacy of widely used techniques for disaggregation. *International Journal of Paleopathology*, 3(3): 204-207. doi: 10.1016/j.jpp.2013.04.004
- Anastasiou, E., Papathanasiou, A., Schepartz, L., Mitchell, P.D., 2018. Infectious disease in the ancient Aegean: Intestinal parasitic worms in the Neolithic to Roman Period inhabitants of Kea, Greece. *Journal of Archaeological Science: Reports*, 17, 860-864. doi: 10.1016/j.jasrep.2017.11.006
- Andersen, K., Bird, KL., Rasmussen, M., *et al.*, 2012. Meta-barcoding of ‘dirt’ DNA from soil reflects vertebrate biodiversity. *Molecular Ecology*, 21:1966-1979. doi: 10.1111/j.1365-294X.2011.05261.x
- Anderson, R. C. 1984. The origins of zooparasitic nematodes. *Canadian Journal of Zoology*, 62(3), 317–328. doi:10.1139/z84-050
- Anderson, T.J., 2001. The dangers of using single locus markers in parasite epidemiology: *Ascaris* as a case study. *Trends in Parasitology*, 17(4):183-188. doi: 10.1016/s1471-4922(00)01944-9
- Antoniou, G., P., Angelakis, A., 2015. Latrines and Wastewater Sanitation Technologies in Ancient Greece *In* Mitchell, PD., (Ed) *Sanitation, Latrines and Intestinal Parasites in Past Populations*. Ashgate, Farnham, pp. 442-456

- Appelt, S., Armougom, F., Le Bailly, M., Robert, C., Drancourt, M., 2014. Polyphasic Analysis of a Middle Ages Coprolite Microbiota, Belgium. *PLoS ONE* 9(2): e88376. doi: 10.1371/journal.pone.0088376
- Appelt, S., Drancourt, M., Le Bailly, M., 2016. Human Coprolites as a Source for Paleomicrobiology. *Paleomicrobiology of Humans*, 4(4), 59–74. doi: 10.1128/microbiolspec.PoH-0002-2014
- Appelt, S., Fancello, L., Le Bailly, M., Raoult, D., Drancourt, M., Desnues, C., 2014. Viruses in a 14th-century coprolite, *American Society for Microbiology*; 80(9):2648-2655. doi: 10.1128/AEM.03242-13
- Araujo, A.G., Jansen, A.M., Bouchet, F., Reinhard, K., Ferreira, L.J., 2003. Parasitism, the diversity of life, and paleoparasitology. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 98 Suppl 1:5-11. doi: 10.1590/s0074-02762003000900003.
- Araujo, A., Reinhard, K., Ferreira, L.F., 2015. Palaeoparasitology – Human Parasites in Ancient Material. *Advances in Parasitology*, 89:349-387. doi: 10.1016/bs.apar.2015.03.003
- Arnoldus-Huyzendvelda, A., 2007. *Tra terra e acqua: trasformazioni geo-ambientali*, in Francovich, R., Cantini F., Cianferoni, C., Scampoli E. (a cura di), *Firenze prima degli Uffizi. Lo scavo di via de' Castellani: contributi per un'archeologia urbana fra tardo antico ed età moderna*, Florence, pp. 51-60
- Arriaza, B.T., Reinhard, K., Araujo, A.G., Orellana, N., Standen, V., 2010. Possible influence of the ENSO phenomenon on the pathoecology of diphyllobothriasis and anisakiasis in ancient Chinchorro populations. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 105(1):66-72. doi: 10.1590/s0074-02762010000100010
- Aufderheide, A.C., Salo, W., Madden, M., *et al.*, 2004. A 9,000-year record of Chagas' disease. *PNAS*, 101(7):2034-2039. doi: 10.1073_pnas.0307312101
- Aufderheide, A.C., Salo, W., Madden, M., Streitz, J., Dittmar de la Cruz, K., Buikstra, J., Arriaza, B. and Wittmers, L. E., Jr., 2005. Aspects of ingestion transmission of Chagas disease identified in mummies and their coprolites. *Chungara, Revista de Antropología Chilena* 37, 85–90
- Baar, C., d'Abbadie, M., Vaisman, A., Arana, ME., Hofreiter, M., Woodgate, R., Kunkel, T.A., Holliger, P., 2011. Molecular breeding of polymerases for resistance to environmental inhibitors. *Nucleic Acids Research*, 39(8) p. e51. doi: 10.1093/nar/gkq1360
- Baker, A.G., Bhagwat, S.A., Willis, K.J., 2013. Do dung fungal spores make a good proxy for past distribution of large herbivores? *Quaternary Science Reviews* 62:21-31. doi:10.1016/j.quascirev.2012.11.018

- Baker, A.G., Cornelissen, P., Bhagwat, S.A., Vera, F.W.M., Willis, K.J., 2016. Quantification of population sizes of large herbivores and their long-term functional role in ecosystems using dung fungal spores. *Methods in Ecology and Evolution* 7:1273-1281. doi: 10.1111/2041-210X.12580
- Barakat, R.M.R., 2013. Epidemiology of Schistosomiasis in Egypt: Travel through Time: Review. *Journal of Advanced Research*, 4(5):425-432. doi: 10.1016/j.jare.2012.07.003
- Bartoloni, A., Strohmeyer, M., Benucci, M., Sabatinelli, G., & Paradisi, F., 2000. ParaSightTM-F test for malaria diagnosis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 94(2), 227. doi:10.1016/s0035-9203(00)90288-8
- Bate DMA, (1913) The caves of Crete *In* Trevor-Battye, A., (ed), *Camping in Crete*. Witherby & Co, London, p. 239-253
- Bauduer, F., 2018. Les maladies infectieuses dans l'Égypte ancienne *In* Séguy, I., Ginnaio, M., Buchet, L., (eds) *Les conditions sanitaires des populations du passé. Environnements, maladies, prophylaxies et politiques publiques*, Editions APDCA, Antibes, p. 15-30
- Beck., MA., Goater, C.P., Colwell, D.D., 2015. Comparative recruitment, morphology and reproduction of a generalist trematode, *Dicrocoelium dendriticum*, in three species of host. *Parasitology*, 142(10):1297-1305. doi: 10.1017/S0031182015000621
- Bedarida, S., Dutour, O., Buzhilova, A.P., de Micco, P., Biagini, P., 2011. Identification of viral DNA (Anelloviridae) in a 200-year-old dental pulp sample (Napoleon's Great Army, Kaliningrad, 1812). *Infections, Genetics and Evolution*, 11(2):358-62. doi: 10.1016/j.meegid.2010.11.007
- Bellard, F. G., & Cortés, J. L. A., 1991. A muscular parasite in a mummified girl. *International Journal of Osteoarchaeology*, 1(3-4), 215-218. doi:10.1002/oa.1390010313
- Beltrame, M.O., Bellusci A., Andrade A., (2018) First paleoparasitological study of micromammal coprolites from the holocene of the somuncura plateau protected natural area (Patagonia Argentina). *Parasitology International* 67:362-365. doi: 10.1016/j.parint.2018.02.005
- Beltrame, M.O., Fernandez, F.J., Sardella, N.H., 2015. First paleoparasitological record of acanthocephalan eggs from Northwestern Patagonia (Late Holocene, Argentina). *Acta Tropica* 146:33-35. doi : 10.1016/j.actatropica.2015.02.019
- Beltrame, M.O., Fernandez, F.J., Sardella, N.H., 2015. Reptile and rodent parasites in raptor pellets in an archaeological context: the case of Epullan Chica

- (northwestern Patagonia, Argentina). *Quaternary Science* 119:1-10. doi: 10.1016/j.quascirev.2015.04.014
- Beltrame, M.O., Fugassa, M.H., Sardella, N.H., Civalero, M.T., Aschero, C., 2011. Raptor pellets as zooarchaeological material for paleoparasitological studies in Patagonia. *Journal of Archaeological Science* 38:1511-1515. doi:10.1016/j.jas.2011.02.016
- Beltrame, M.O., Souza, M.V., Araujo, A.G., Sardella, N.H., 2014. Review of the rodent paleoparasitological knowledge from South America. *Quaternary International* 352:68-74. doi: 10.1016/j.quaint.2014.09.006
- Beltrame, M.O., Tietze, E., Enrique, P.A., Sardella, N.H., 2017. First paleoparasitological record of digenean eggs from a native deer from Patagonia Argentina (Cueva Parque Diana archaeological site). *Veterinary parasitology* 235:83-85. doi: 10.1016/j.vetpar.2017.01.011
- Bertrand, F., 2018. Les autorités civiles et religieuses face à la première pandémie pesteuse, dite “Peste de Justinien” (541-767) in Séguy, I., Ginnaio, M., Buchet, L., (ed) Les conditions sanitaires des populations du passé. Environnement, maladies, prophylaxies et politiques publiques. Edition APDCA – Antibes, p. 133-150
- Betson, M., Nejsum, P., Bendakk, R.P., 2014. Molecular epidemiology of ascariasis; a global perspective on the transmission dynamics of *Ascaris* in people and pigs. *The Journal of Infectious Diseases*, 210(6):932-941. doi: 10.1093/infdis/jiu193
- Biagini, P., Theves, C., Balaresque, P., Geraut, A., Cannet, C., Keyser, C., Nikolaeva, D., Gerard, P., Duchesne, S., Orlando, L., Willerslev, E., Alekseev, A.N., de Micco, P., Ludes, B., Crubezy, E., 2012. Variola virus in a 300-year-old Siberian mummy. *New England Journal of Medicine*, 367(21):2057-9. doi: 10.1056/NEJMc1208124
- Bianucci, R., Mattutino, G., Lallo, R., Charlier, P., Jouin-Spriet, H., Peluso, A., Higham, T., Torre, C., Rabino Massa, E., 2008. Immunological evidence of *Plasmodium falciparum* infection in an Egyptian child mummy from the Early Dynastic Period. *Journal of Archaeological Science*, 35(7):1880–1885. doi: 10.1016/j.jas.2007.11.019
- Bianucci, R., Rahalison, L., Massa, E. R., Peluso, A., Ferroglio, E., Signoli, M., 2008. Technical note: A rapid diagnostic test detects plague in ancient human remains: An example of the interaction between archeological and biological approaches (southeastern France, 16th-18th centuries). *American Journal of Physical Anthropology*, 136(3):361–367. doi: 10.1002/ajpa.20818
- Binford, M.W., 1982. Ecological history of Lake Valencia, Venezuela: interpretation of animal microfossils and some chemical, physical, and geological features. *Ecological Monographs*, 52, 307–337

- Blair, J.E., 2009. Animals (Metazoa). In: Hedges, B.S., Kumar, S. (Eds), *The Timetree of Life*. University Press, Oxford, pp. 223-230
- Blaxter, M., Koutsovoulos, G., 2015. The evolution of parasitism in Nematoda. *Parasitology* 142 (Suppl. 1), 26-39. doi: 10.1017/S0031182014000791
- Boast, AP., Weyrich, L. S., Wood, JR., Metcalf, JL., Knight, R. and Cooper, A., 2018. Coprolites reveal ecological interactions lost with the extinction of New Zealand birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 115, 1546–1551
- Bogitsh, B. J., Carter, C. E., Oeltmann, T. N., Bogitsh, B. J., Carter, C. E., Oeltmann, T. N., 2013a. Chapter 12 – General Characteristics of the Cestoda, *In Human Parasitology* (pp. 217–235). doi: 10.1016/B978-0-12-415915-0.00012-1
- Bogitsh, B. J., Carter, C. E., Oeltmann, T. N., Bogitsh, B. J., Carter, C. E., Oeltmann, T. N., 2013b. Chapter 15 – General Characteristics of the Nematoda. *In Human Parasitology* (pp. 269–289). doi: 10.1016/B978-0-12-415915-0.00015-7
- Bogitsh, B. J., Carter, C. E., Oeltmann, T. N., Bogitsh, B. J., Carter, C. E., Oeltmann, T. N., 2013c. Chapter 3 – General Characteristics of the Euprotista (Protozoa). *In Human Parasitology* (pp. 37–51). doi: 10.1016/B978-0-12-415915-0.00003-0
- Bogitsh, B. J., Carter, C. E., Oeltmann, T. N., Bogitsh, B. J., Carter, C. E., Oeltmann, T. N., 2013d. Chapter 9 – General Characteristics of the Trematoda. *In Human Parasitology* (pp. 153–178). doi: 10.1016/B978-0-12-415915-0.00009-1
- Bogitsh, B.J., Carter, C., Oeltmann, T., 2012. *Human Parasitology*, 4th edition. Academic Press, Waltham
- Bogitsh, B.J., Carter, C.E., Oeltmann, T.N., 2012. Intestinal Nematodes *In* Bogitsh, B.J. (Ed) *Human Parasitology*, 4th edition, Academic Press. pp. 291-326. doi: 10.1016/B978-0-12-415915-0.00016-9
- Boissier, J., Grech-Angelini, S., Webster, B. L., Allienne, J. F., Huyse, T., Mas-Coma, S., Toulza, E., Barré-Cardi, H., Rollinson, D., Kincaid-Smith, J., Oleaga, A., Galinier, R., Foata, J., Rognon, A., Berre, A., Mouahid, G., Henneron, R., Moné, H., Noël, H., Mitta, G., 2016. Outbreak of urogenital schistosomiasis in Corsica (France): an epidemiological case study. *The Lancet Infectious Diseases*, 16(8):971–979. doi: 10.1016/S1473-3099(16)00175-4
- Borba Nunes, V.H., Alcover, J.A., Silva, V.L., Borba Cruz, P., Machado-Silva, J.R., Araujo, A.G., 2017. Paleoparasitological analysis of the extinct *Myotragus balearicus* Bate 1909 (Artiodactyla, Caprinae) from Mallorca (Balearic Islands,

- Western Mediterranean), *Parasitology International*, 66, 7-11. doi: 10.1016/j.parint.2016.11.009
- Borba, V.H., Machado-Silva, J.R., Le Bailly, M., Mayo Iñiguez, A., 2019. Worldwide paleodistribution of capillariid parasites: Paleoparasitology, current status of phylogeny and taxonomic perspectives. *PLoS ONE* 14(4): e0216150. doi: 10.1371/journal.pone.0216150
- Bos, K. I., Harkins, K. M., Herbig, A., Coscolla, M., Weber, N., Comas, I., ... Krause, J. (2014). Pre-Columbian mycobacterial genomes reveal seals as a source of New World human tuberculosis. *Nature*, 514(7523), 494–497. doi:10.1038/nature13591
- Bos, K. I., Schuenemann, V. J., Golding, G. B., Burbano, H. A., Waglechner, N., Coombes, B. K., ... Krause, J. (2011). A draft genome of *Yersinia pestis* from victims of the Black Death. *Nature*, 478(7370), 506–510. doi:10.1038/nature10549
- Bos, K. I., Herbig, A., Sahl, J., Waglechner, N., Fourment, M., Forrest, S.A., Klunk, J., Schuenemann, V.J., 2016. Eighteenth century *Yersinia pestis* genomes reveal the long-term persistence of an historical plague focus. *eLIFE*, 5:e12994. doi: 10.7554/eLife.12994
- Bosi, G., Mazzanti, M.B., Florenzano, A., N'siala, I.M., Pederzoli, A., Rinaldi, R., Torri, P., Mercuri, A.M., 2011. Seeds/fruits, pollen and parasite remains as evidence of site function: piazza Garibaldi – Parma (N Italy) in Roman and Mediaeval times. *Journal of Archaeological Science*, 38(7):1621-1633. doi: 10.1016/j.jas.2011.02.027
- Botella, HG., Vargas, J. A. A., de la Rosa, MA., Leles, D., Reimers, EG., Vicente, ACP., & Iñiguez, AM., 2010. Paleoparasitologic, paleogenetic and paleobotanic analysis of XVIII century coprolites from the church La Concepción in Santa Cruz de Tenerife, Canary Islands, Spain. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 105(8), 1054–1056. doi:10.1590/s0074-02762010000800017
- Bouchet, F., Baffier, D., Girard, M., Morel, P., Paicheler, J.C., David, F., 1996. Paléoparasitologie en contexte Pléistocène premières observations à la Grand Grotte d'Arcy-sur-Cure (Yonne), France. *C. R. Acad. Sci. Paris* 319, 147-151
- Bouchet, F., Harter, S., Le Bailly, M., 2003. The State of the Art of Paleoparasitological Research in the Old World. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 98(1):95–101. doi: 10.1590/S0074-02762003000900015
- Bouchet, F., Harter, S., Paicheler, J.C., Araújo, A., Ferreira, L.F., 2002. First recovery of *Schistosoma mansoni* eggs from a latrine in Europe (15-16th centuries). *The Journal of Parasitology*, 88(2), 404–405. doi: 10.1645/0022-3395(2002)088[0404:FROSME]2.0.CO;2

- Bourrée, P., 1996. Trichocéphalose in Nozais, J.-P., Datry, A., Danis, M., (ed) *Traité de parasitology médicale*, Editions pradel, Paris, p. 423-428
- Bouwman, A.S., Brown, T.A., 2005. The limits of biomolecular palaeopathology: Ancient DNA cannot be used to study venereal syphilis. *Journal of Archaeological Science*, 32(5):703–713. doi: 10.1016/j.jas.2004.11.014
- Brinkkemper O, van Haaster H., 2012. Eggs of intestinal parasites whipworm (Trichuris) and mawworm (Ascaris), Non-pollen palynomorphs in archaeological samples. *Review of Paleobotany and Palynology* 186:16-61. doi:10.1016/j.revpalbo.2012.07.003
- Brkojewitsch, G. et al., 2020 . La villa romaine de Mare Stagno (du 1^{er} au IIIe s. apr. J.-C.), Rapport de fouille programmée
- Broodbank, C., 2013. *The Making of the Middle Sea, A History of the Mediterranean from the Beginning to the Emergence of the Classical World*. Thames and Hudson, ISBN 9780500051764, 672 p.
- Brooke, J.L., 2018. The Holocene *In* White, S., Mauelshagen, F., Pfister, C., (Eds) *The Palgrave Handbook of Climate History*. Palgrave MacMillan, London. pp. 175-182
- Brown, T., Brown, K., 2011. *Biomolecular archaeology*. Wiley-Blackwell, Oxford
- Brun, P., 1996. Les archipels égéens dans l'antiquité grecque (Ve-IIe siècles av. notre ère). Presses Univ. Franche-Comté
- Bruneau, P., 1968. Contribution à l'histoire urbaine de Délos. *BCH* 92, p. 633-709
- Bruneau, P., 1973. Le quartier de l'Inopos à Délos et la fondation du Sarapieion A dans un « lieu plein d'ordure ». *Bull. Corresp. Hell. Supplément* 1, 111–136. doi:10.3406/bch.1973.5056
- Bruneau, P., Ducat, J., Brunet, M., Farnoux, A., Moretti, J.-C., 2005. *Guide de Delos, Sites et monuments (Athènes)*, École française d'Athènes, Athènes, Grèce
- Brunet, M., Desruelles, S., Cosandey, C., Fouache, E., Pavlopoulos, K., Siard, H., 2003. L'eau à Délos. *BCH*, 127-2, p. 516-525
- Bruschi, F., Masetti, M., Locci, M.T., Ciranni, R., Fornaciari, G., 2006. Short report: Cysticercosis in an Egyptian mummy of the late ptolemaic period. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 74(4), 598–599
- Cahill, J., Reinhard, K., Tarler, D., Warnock, P., 1991. It had to happen. Scientists examine remains of ancient bathroom. *The Biblical archaeology review*, 17, 64–69
- Callen, E.O., Cameron, T.W.M., 1960. A prehistoric diet revealed in coprolites. *New Scientist*, 190(8), 35-40

- Camacho, M., Reinhard, K.J., 2019. Confusing a Pollen Grain with a Parasite Egg: an Appraisal of “Paleoparasitological Evidence of Pinworm (*Enterobius Vermicularis*) infection in a Female Adolescent Residing in Ancient Tehran”. *The Korean Journal of Parasitology*, 57(6): 621-625. doi: 10.3347/kjp.2019.57.6.621
- Cantini, F., Cianferoni C, Francovich R, Scampoli E, Arnoldus-Huyzendveld A, Baldi A, Belli M, Bruttini J, Buonincontri MP, Caroscio M, Citriniti G, Corbini CA, Degasperi A, Degl'innocenti E, Di Pasquale G, Donnini D, Fornaciari A, Lelli P, Mendera M, Mori Secchi M, Papaccio G, Pecci A, Pignattelli S, Pruno E, Salvini L, Spezi L, Terzani M, Torsellini L, Viglietti C. Firenze prima degli Uffizi. Lo scavo di via de' Castellani. Contributi per un'archeologia urbana fra tardo antico ed età moderna. Florence: All'Insegna del Giglio 2007
- Capasso, L., Di Tota, G., 1998. Lice buried under the ashes of Herculaneum. *The Lancet*,. doi: 10.1016/S0140-6736(05)60665-4
- Cardia, D.F.F., Bertini, R.J., Camossi, L.G., Letizo, L.A., 2018. First record of Acanthocephala parasites eggs in coprolites preliminary assigned to Crocodyliformes from the Adamantina Formation (Bauru Group, Upper Cretaceous), São Paulo, Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 91(2). doi: 10.1590/0001-3765201920170848
- Cardini, F., Montesano, M., 2006. Storia medievale, Firenze, Le Monnier Università
- Cascardo, P., Pucu, E., Leles, D., 2017. The History of Evolution of Life on Earth Told by Paleoparasitology. *Global Journal of Archaeology & Anthropology*, 1(2), 2–5. doi: 10.19080/GJAA.2017.01.555560
- Cayeux, L., 1911. Description physique de l'île de Délos
- Cerutti, N., Marin, A., Massa, E.R., Savoia, D., 1999. Immunological investigation of malaria and new perspectives in paleopathological studies. *Bollettino Della Società Italiana di Biologia Sperimentale* , 75(3):17-20
- Cerutti, N., Marin, A., Rabino Massa, E., 2007. Plague in ancient remains: an immunological approach *In* Signoli, M., Chev , D., Adalian, P., Boetsch, G., Dutour, O., (Ed). *Plague: epidemics and societies*. Florence (Italie): Firenze University Press, 238–241
- Chamonard, J., 1924. Le quartier du th atre. Construction et technique (3^o partie) *In* *Exploration Archéologique de D los*, 8,2, De Boccard, p. 328-329
- Chaniotis A., 1999. From Minoean Farmers to Roman Traders Sidelights on the Economy of Ancient Crete. Franz Steiner Verlag, Stuttgart

- Charlier, P., Bouchet, F., Weil, R., Bonnet, B., 2016. Schistosomiasis in the mummified viscera of Saint-Louis (1270 AD). *Forensic Science, Medicine, and Pathology*, 12:113-114. doi: 10.1007/s12024-015-9722-4
- Chessa, D., Murgia, M., Sias, E., [...] Wain, J., Rudino, S., 2020. Metagenomics and microscope revealed *T. trichiura* and other intestinal parasites in a cesspit of an Italian nineteenth century aristocratic palace. *Scientific Reports*, 10(1), 12656. doi:10.1038/s41598-020-69497-8
- Cleaveland, S., Laurenson, M.K., Taylor, L.H., 2001. Diseases of humans and their domestic mammals: pathogen characteristics, host range and the risk of emergence. *Philosophical Transactions of the Royal Society B Biological Sciences*, 356(1411): 991–999. doi: 10.1098/rstb.2001.0889
- Cleeland, L. M., Reichard, M. V., Tito, R. Y., Reinhard, K. J., & Lewis, C. M., 2013. *Clarifying prehistoric parasitism from a complementary morphological and molecular approach. Journal of Archaeological Science*, 40(7), 3060–3066. doi:10.1016/j.jas.2013.03.010
- Clère, J., Le Dinahet, M.-T., 1994. Les tombes hellénistiques de Kato Generale à Rhénée : présentation et étude anthropologique. J. Clère, Villeurbanne, France
- Cockburn A, Barraco R.A., Reyman T.A., Peck, W.H., 1975. Autopsy of an Egyptian mummy. *Science.*, 187(4182):1155–1160. doi: 10.1126/science.187.4182.1155
- Combes, C., Gavotte, L., Moulia, C., Sicard, M., 2018. Parasitisme, écologie et évolution des interactions durables. Dunod, Paris, 332 p.
- Costa, MA., Matheson, C., Iachetta, L., Llagostera, A. and Appenzeller, O., 2009. Ancient leishmaniasis in a highland desert of Northern Chile. *PLoS ONE* 10, e6983. doi:10.1371/journal.pone.0006983
- Côté, N., 2015. Apports de la paléogénétique à l'étude des helminthes gastro-intestinaux anciens. PhD Thesis, Université de Bourgogne Franche-Comté
- Côté, NML., Daligault, J., Pruvost, M., Bennett, EA., Gorgé, O., Guimaraes, S., Capelli, N., Le Bailly, M., Geigl, E.-M., Grange, T., 2016. A new high-throughput approach to genotype ancient human gastrointestinal parasites. *PLoS ONE*, 11(1):1–18. doi: 10.1371/journal.pone.0146230
- Côté, NML., Le Bailly, M., 2017. Palaeoparasitology and palaeogenetics: review and perspectives for the study of ancient human parasites. *Parasitology*, 145(5): 656-664. doi: 10.1017/S003118201722141X
- Crompton, DWT., 2001. Ascaris and ascariasis. *Advances in Parasitology*, 48:285-375

- Crosby, A., 2003. *The Columbian Exchange, Biological and Cultural Consequences of 1492*. Praeger, Westport, 283 p.
- Crubézy, E., Ludes, B., Poveda, J.D., Clavton, J., Crouau-Roy, B., Montagnon, D., 1998 Identification of Mycobacterium DNA in an Egyptian Pott's disease of 5,400 years old. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences – Séries III – Sciences de La Vie*, 321(11):941-951
- Cugny C, Mazier F, Galop D, 2010. Modern and fossil non-pollen palynomorphs from the Basque mountains (western Pyrénées, France): the use of coprophilous fungi to reconstruct pastoral activity. *Vegetation History and Archaeobotany* 19:391-408. doi: 10.1007/s00334-010-0242-6
- Cushing, A., 1999. Roman military hospitals. *Collegian*, 6, 3
- Da Silva, P., Borba, V.H., Dutra, J.M.F., Leles, D., da-Rosa, A.A.S., Ferreira, L.F., Araujo, A., 2014. A new ascarid species in cynodont coprolite dated of 240 million years. *Ann. Braz. Acad. Sci.* 86, 265e269. doi: 10.1590/0001-3765201320130036
- Datry, A., Carrière, J., 1996. Anguillulose in Nozais, J.-P., Datry, A., Danis, M., (ed) *Traité de parasitologie médicale*, Editions pradel, Paris, p. 451-457
- David, A.R., 1997. Disease in Egyptian mummies: The contribution of new technologies. *Lancet*, 349(9067):1760–1763. doi: 10.1016/S0140-6736(96)10221-X
- Davidsohn, R., *Storia di Firenze. I: Le origini*. Firenze: Sansoni, 1969, p. 45
- De Baets, K., Dentzien-Dias, P., Upeniece, I., Verneau, O., & Donoghue, P. C. J., 2015. Constraining the Deep Origin of Parasitic Flatworms and Host-Interactions with Fossil Evidence. *Advances in Parasitology*, 93–135. doi:10.1016/bs.apar.2015.06.002
- de Boni, U., Lenczner, M.M., Scott, J.W., 1977. Autopsy of an Egyptian mummy. 6. *Trichinella spiralic* cyst. *Canadian Medical Association Journal* 117(15): 472
- De Marinis, G., 1996 *Firenze: archeologia e storia dell'insediamento urbano. I: Un profilo di sviluppo* In Capecchi C, (a cura di), *Alle origini di Firenze. Dalla preistoria alla città romana*, Florence, Polistampa. 1996, pp. 36-42
- de Meeûs, T., Prugnolle, F., Agnew, P., 2009. Asexual Reproduction in Infectious Diseases *In* Schön, I., Martens, K., van Dijk, P., (ed). *Lost sex: The evolutionary biology of parthenogenesis*, Springer Netherlands, 517-533. doi: 10.1007/978-90-481-2770-2_24

- de Silva, NR., Cooper, ES., 2011. Trichuriasis in Guerrant, RL., Walker, D., Weller, PF., Tropical Infectious Diseases: Principles, Pathogens and Practice, Saunders, 791-793
- Deelder, A.M., Miller, R.L., de Jonge, N., Krijger, F.W., 1990. Detection of schistosome antigen in mummies. *Lancet*, 335(8691) 724–725. doi: 10.1016/0140-6736(90)90838-V
- Dentzien-Dias P.C., Poinar, G., de Figueiredo, A.E.Q., Pacheco, A.C.L., Horn, B.L.D., Schultz CL (2013) Tapeworm eggs in a 270 million-year old shark coprolite. *PLoS ONE* 8(1): e55007. doi: 10.1371/journal.pone.0055007
- Desruelles, S., 2006. L'eau dans l'ensemble insulaire cristallin méditerranéen Mykonos-Délos-Rhénée (Cyclades, Grèce) et sa gestion dans la ville antique de Délos, Lille thèses, ISSN 0294-1767. Atelier national de Reproduction des Thèses, Lille, France
- Dincauze, D. F., 2000. Environmental Archaeology. Cambridge University Press, Cambridge, 587 p.
- Dittmar, K, Araujo A, Reinhard K. The study of parasites through time: archaeoparasitology and paleoparasitology. In Grauer AL (ed, A companion to Paleopathology. Wiley-Blackwell, New Jersey, pp. 170-190
- Dommelier-Espejo, S., 2001. Contribution à l'étude paléoparasitologique des sites néolithiques en environnement lacustre dans les domaines jurassien et péri-alpin, PhD Thesis
- Dommelier-Espejo, S., Pétrequin, P., 2016. Analyses paléoparasitologiques à Clairvaux et Chalain. P. 1175-1192. In Pétrequin, P. (Ed.), Clairvaux et le 'Néolithique Moyen Bourguignon'. Les Cahiers de la MSHE Ledoux. Besançon: Presses Universitaires de Franche-Comté
- Donoghue, H.D., 2008. Palaeomicrobiology of Tuberculosis In Raoult, D., Drancourt, M., (ed), *Paleomicrobiology: Past Human Infections*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 75–97. doi: 10.1007/978-3-540-75855-6_6
- Donoghue, H.D., Marcsik, A., Matheson, C., Vernon, K., Nuorala, E., Molto, JE., Greenblatt, C.L., Spigelman, M., 2005. Co-infection of Mycobacterium tuberculosis and Mycobacterium leprae in human archaeological samples: A possible explanation for the historical decline of leprosy. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences.*, 272:389-394
- Donoghue, H.D., Spigelman, M., Zias, J., Gernaey-Child, A.M., Minnikin, D.E., 1998. Mycobacterium tuberculosis complex DNA in calcified pleura from remains 1400 years old. *Letters in Applied Microbiology*, 27(5):265–269. doi: 10.1046/j.1472-765X.1998.00436.x

- Donoghue, H.D., Taylor, G.M., Marcsik, A., Molnár, E., Pálfi, G., Pap, I., Teschler-Nicola, M., Pinhasi, R., Erdal, Y.S., Velemínsky, P., Likovsky, J., Belcastro, M.G., Mariotti, V., Riga, A., Rubini, M., Zaio, P., Besra, G.S., Lee, O.Y.-C., Wu, H.H.T., Minnikin, D.E., Bull, I.D., O’Grady, J., Spigelman, M., 2015. A migration-driven model for the historical spread of leprosy in medieval Eastern and Central Europe. *Infection, Genetics and Evolution*, 31:250-256. doi: 10.1016/j.meegid.2015.02.001
- Donoghue, H.D., Taylor, G.M., Mendum, T.A., Stewart, G.R., Rigouts, L., Lee, O., Y.-C., Wu, H.H.T., Besra, G.S., Minnikin, D.E., 2019. The Distribution and Origins of Ancient Leprosy in Ribón, W., (ed) Hansen’s Disease - The Forgotten and Neglected Disease. IntechOpen. doi: 10.5772/intechopen.75260
- Drancourt, M., Aboudharam, G., Signoli, M., Dutour, O., Raoult, D., 1998. Detection of 400-year-old *Yersinia pestis* DNA in human dental pulp: An approach to the diagnosis of ancient septicemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 95(21):12637–12640. doi: 10.1073/pnas.95.21.12637
- Drancourt, M., Raoult, D., 2008a. Molecular detection of past pathogens. *Paleomicrobiology: Past Human Infections*, 55–68. doi: 10.1007/978-3-540-75855-6_4
- Drancourt, M., Raoult, D., 2008b. Past plague. *Paleomicrobiology: Past Human Infections*, 145–159. doi: 10.1007/978-3-540-75855-6_9
- Drancourt, M., Tran-Hung, L., Courtin, J., de Lumley, H., Raoult, D., 2005. *Bartonella quintana* in a 4000-year-old human tooth. *The Journal of Infectious Diseases*, 191(4):607–611. doi: 10.1086/427041
- Dubbin, A.M., 2003. Analysis of Faecal deposits from Pompeii, Italy: A New Source of Evidence for Ancient Diet and Urban Ecology. University of Bradford
- Duday, H., 2005. Lezioni di archaeotanatologia, archeologia funeraria e antropologia di campo. Roma, p. 167
- Dufour B., Le Bailly M., 2013. Testing new parasite egg extraction methods in paleoparasitology and an attempt at quantification. *International Journal of Paleopathology* 3 :199-203. doi: 10.1016/j.ijpp.2013.03.008
- Dufour, B. 2015. Synthèse de données et nouvelle contribution à l’étude des parasites de l’époque romaine, et apports méthodologiques de l’extraction des marqueurs au traitement des résultats [dissertation]. [Besançon]: University of Bourgogne Franche-Comté

- Dufour, B., Hugot, J.-P., Lepetz, S., Le Bailly, M., 2015. The horse pinworm (*Oxyuris equi*) in archaeology during the Holocene: Review of past records and new data. *Infection, Genetics and Evolution*, 33, 77-83. doi: 10.1016/j.meegid.2015.04.014
- Dupain, J., Nell, C., Petrzekov_a, K.J., Garcia, P., Modry, D., Gordo, F.P., 2009. Gastrointestinal parasites of bonobos in the Lomako Forest, Democratic Republic of Congo. In: Huffman, M.A., Chapman, C.A. (Eds.), *Primate Parasite Ecology, the Dynamics and Study of Host-Parasite Relationships*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 297-310
- Dutour, O., 2011. *La paléopathologie*. Editions du Comité des travaux historiques et scientifiques
- Dutour, O., 2013. Paleoparasitology and paleopathology. Synergies for reconstructing the past of human infectious diseases and their pathocenosis. *International Journal of Paleopathology*, 3(3):145–149. doi: 10.1016/j.ijpp.2013.09.008
- Dzierzykay-Rogalski, T., 1980. Paleopathology of the Ptolemaic inhabitants of Dakhleh oasis (Egypt). *Journal of Human Evolution*, 9:71-74
- Ejarque, A., Miras, Y., Riera, S., 2011. Pollen and non-pollen palynomorph indicators of vegetation and highland grazing activities obtained from modern surface and dung datasets in the eastern Pyrenees. *Review of Palaeobotany and Palynology* 167:123-139 doi:10.1016/j.revpalbo.2011.08.001
- Eskew, W.H., Ledger, M.L., Lloyd, A., Pyles, G., Gosker, J., Mitchell, P.D., 2019. Intestinal Parasites in an Ottoman Period Latrine from Acre (Israel) Dating to the Early 1800s CE. *The Korean Journal of Parasitology*, 57(6):575-580. doi: 10.3347/kjp.2019.57.6.575
- Faulkner, C.T., Patton, S., Johnson, S.S., 1989. Prehistoric parasitism in Tennessee: Evidence from the analysis of desiccated fecal material collected from Big Bone Cave, Van Buren County, Tennessee. *Journal of Parasitology*, 75:461-463
- Faulkner, C.T., Reinhard K.J., 2014. A Retrospective Examination of Paleoparasitology and its Establishment in the *Journal of Parasitology*. *The Journal of Parasitology*, 100(3):253-259. doi: 10.1645/13-485.1
- Fernandes, A., Iñiguez, A. M., Lima, V.S., Souza, S.M., Ferreira, L.F., Vicente, ACP. and Jansen, A.M., 2008. Pre-Columbian Chagas disease in Brazil: *Trypanosoma cruzi* I in the archaeological remains of a human in Peruaçu Valley, Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 103, 514–516

- Ferreira, L.F., Ara_ujo, A., Confalonieri, U., Chame, M., Gomes, D.G., 1991. *Trichuris* eggs in animal coprolites dated from 30,000 years ago. *J. Parasitol.* 73, 491-493. doi: 10.2307/3283143
- Ferreira, L.F., Araujo, A., Confalonieri, U., 1979. Subsídios para a Paleoparasitologia do Brasil I – Parasitos encontrados em coprolitos no município de Unai, Minas Gerais, Congr. Bras. Parasitol., Abstr., Campinas, SP, p. 56
- Ferreira, L.F., Araujo, A., Confalonieri, U., 1980. The finding of eggs and larvae of parasitic helminthes in archaeological material from Unai, Minas Gerais, Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 74:798-800
- Flammer, P.G., Dellicour, S., Preston, S., Rieger, D., Warren, S., Tan, C.K.W., Nicholson, R., Prichystalova, R., Bleicher, N., Wahi, J., Faria, NR., Pybus, OG., Pollard, M., Smith, AL., 2018. Molecular archaeoparasitology identifies cultural changes in the Medieval Hanseatic trading centre of Lübeck. *Proceedings of the Royal Society B*, 285(1888). doi: 10.1098/rspb.2018.0991.
- Fletcher, J., 2002. Ancient Egyptian hair and wigs. *The Ostrakon the journal of the Egyptian study society*, 13(2):2-8
- Florenzano, A., Mercuri, A.M., Pederzoli, A., Torri, P., Bosi, G., Olmi, L., Rinaldi, R., Bandini Mazzanti, M., 2012. The Significance of Intestinal Parasite Remains in Pollen Samples from Medieval Pits in the Piazza Garibaldi of Parma, Emilia Romagna, Northern Italy. *Geoarchaeology*, 27(1):34–47. doi: 10.1002/gea.21390
- Forbes, V., Dussault, F., Bain, A., 2013. Contributions of ectoparasite studies in archaeology with two examples from the North Atlantic region. *International Journal of Paleopathology*, 3(3):158–164. doi: 10.1016/j.ijpp.2013.07.004
- Fornaciari, G., Castagna, M., Tognetti, A., Tornaboni, D., Bruno, J., 1989. Syphilis in a renaissance italian mummy. *The Lancet*, 2,(8693):614. doi: 10.1016/s0140-6736(89)90729-0
- Fornaciari, G., Giuffra, V., Ferroglio, E., Gino, S., Bianucci, R., 2010. Plasmodium falciparum immunodetection in bone remains of members of the Renaissance Medici family (Florence, Italy, sixteenth century). *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 104(9):583–587. doi: 10.1016/j.trstmh.2010.06.007

- Fournier, P. E., Drancourt, M., Aboudharam, G., Raoult, D., 2015. Paleomicrobiology of Bartonella infections. *Microbes and Infection*, 17(11–12):879–883. doi: 10.1016/j.micinf.2015.09.002
- Franco-Paredes, C., Khan, M.I., Gonzalez-Diaz, E., Santos-Preciado, J.I., Rodriguez-Morales, A.J., Gotuzzo, E., 2016. Enteric Fever: A Slow Response to an Old Plague. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(5):10–14. doi: 10.1371/journal.pntd.0004597
- Fressoz, J.-B., Graber, F., Locher, F., Quenet, G., 2014. Introduction à l’histoire environnementale, La Découverte, Paris. 125 p.
- Friedman, R.F., Friedman, R.F., Maish, A., Fahmy, A.G., Darnell, J.C., Johnson, E.D., 1999. Preliminary report on field work at Hierakonpolis: 1996-1998. *Journal of the American Research Center in Egypt* 36, 1–35
- Fry, G.F., Moore, J.G., 1969. *Enterobius vermicularis*: 10,000-years-old human infection. *Science*, 166:1620
- Fugassa MH, Petrih RS, Fernandez PM, Carballido Catalayud M, Belleli C (2018) Fox parasites in Pre-columbian times: Evidence from the past to understand the current helminth assemblages. *Acta Tropica* 185:380-384. doi:10.1016/j.actatropica.2018.06.007
- Gallois, L. 1910. Cartographie de l’île de Délos
- Galvin, T.J., 1968. Development of human and pig Ascaris in the pig and rabbit. *Journal of Parasitology*, 54(6):1085-1091. doi: 10.2307/3276967
- Gelabert, P., Sandoval-Velasco, M., Olalde, I., Fregel, R., Rieux, A., Escosa, R., Aranda, C., Paaijmans, Krijn, Mueller, Ivo, Thomas, M., Gilbert, P., Lalueza-Fox, C., 2016. Mitochondrial DNA from the eradicated European *Plasmodium vivax* and *P. falciparum* from 70-year-old slides from the Ebro Delta in Spain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(41):11495–11500. doi: 10.1073/pnas.1611017113
- Gill, J.L., McLauchlan, K., Skibbe, A.M., Goring, S., Zirbel, C.H., Williams, J.W., 2013. Linking abundances of the dung fungus *Sporormiella* to the density of bison: implications for assessing grazing by megaherbivores in palaeorecords. *Journal of Ecology* 105:1125-1136. doi: 10.1111/1365-2745.12130
- Golenberg EM; Giannasi DE; Clegg MT; Smiley CJ; Durbin M; Henderson D; Zurawski G (1990). "Chloroplast DNA sequence from a Miocene Magnolia species". *Nature*. 344 (6267): 656–58. Bibcode:1990Natur.344..656G. doi:10.1038/344656a0

- Gonçalves, C.L.M., da Silva, V.L., de Andrade, C.M., Reinhard, K., da Rocha, G.C., Le Bailly, M., Bouchet, F., Ferreira, L.F., Araújo, A., 2004. Amoebiasis distribution in the past: first steps using an immunoassay technique, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 98(2): 88–91. doi: 10.1016/s0035-9203(03)00011-7
- Gonçalves, M.L.C., Araujo, A., Ferreira, L. F., 2003. Human Intestinal Parasites in the Past: New Findings and a Review. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 98(1):103–118. doi: 10.1590/S0074-02762003000900016
- Gonzalez JP, Guiserix M, Sauvage F, Guitton JS, Vidal P, Bahi-Jaber N, Louzir H, Pontier D (2010) Pathocenosis, a holistic approach to disease ecology. *EcoHealth* 7(2): 237-241. doi: 10.1007/s10393-010-0326-x
- Gourevitch D., 2011. Pour une archéologie de la médecine romaine. De Boccard, Paris, 250 p. (Collection Pathographie 8)
- Grauer, A.L. (ed), 2012. A Companion to Paleopathology. A Companion to Paleopathology. doi: 10.1002/9781444345940
- Grmek, M., 1991. Diseases in the ancient Greek world. The Johns Hopkins University Press, Baltimore. Translated by Mireille Muellner and Leonard Muellner
- Grove, A. T., Rackham, O., 2001. The Nature of Mediterranean Europe: An Ecological History, Yale University Press, Yale. 384 p.
- Guedes, L., Borba, V.H., Camacho, M., Neto, J., Dias, O., Iniguez, AM, 2020. African helminth infection out of Africa: paleoparasitological and paleogenetic investigations in Pretos Novos cemetery, Rio de Janeiro, Brazil (1769-1830). *Acta Tropica*, 205:105399. doi : 10.1016/j.actatropica.2020.105399
- Guhl, F., Auderheide, A., & Ramírez, J. D., 2014. From ancient to contemporary molecular eco-epidemiology of Chagas disease in the Americas. *International Journal for Parasitology*, 44(9), 605–612. Doi:10.1016/j.ijpara.2014.02.005
- Haensch, S., Bianucci, R., Signoli, M., Rajerison, M., Schultz, M., Kacki, S., Vermunt, M., Weston, D.A., Hurst, D., Achtman, M., Carniel, E., Bramanti, B., 2010. Distinct clones of *Yersinia pestis* caused the black death. *PLoS Pathogens*, 6(10): e1001134. doi: 10.1371/journal.ppat.1001134
- Haile, J., Holdaway, R., Oliver, K., *et al.*, 2007. Ancient DNA chronology within sediment deposits: are paleobiological reconstructions possible and is DNA leaching a factor? *Molecular Biology and Evolution*, 24:982-989. doi: 10.1093/molbev/msm016

- Haldon, J., Elton, H., Huebner, R., S., Izdebski, A., Morchedai, L., Newfield, P., T., 2018a. Plagues, climate change, and the end of an empire: A response to Kyle Harper's *The Fate of Rome* (1): Climate. *History Compass*, 2018;e12508. doi: 10.1111/hic3.12508
- Haldon, J., Elton, H., Huebner, R., S., Izdebski, A., Morchedai, L., Newfield, P., T., 2018b. Plagues, climate change, and the end of an empire: A response to Kyle Harper's *The Fate of Rome* (2): Plagues and a crisis of empire. *History Compass*, 2018;e12506. doi: 10.1111/hic3.12506
- Haldon, J., Elton, H., Huebner, R., S., Izdebski, A., Morchedai, L., Newfield, P., T., 2018c. Plagues, climate change, and the end of an empire: A response to Kyle Harper's *The Fate of Rome* (3): Disease, agency, and collapse. *History Compass*, 2018;e12507. doi: 10.1111/hic3.12507
- Halioua B., 2009. *Histoire de la médecine*. 3e édition éd., Elsevier Masson, Issy-les-Moulineaux, 278 p. (Abrégés)
- Harper, K., 2019. *Comment l'Empire romain s'est effondré. Le climat, les maladies et la chute de Rome*. La Découverte, Paris, 543 p.
- Harris M (1987) *The Sacred Cow and the Abominable Pig: Riddles of Food and Culture*, Simon & Schuster, New York, 67-79
- Harter, S., 2003. *Implication de la Paléoparasitologie dans l'étude des populations anciennes de la vallée du Nil et du Proche-Orient : études de cas*. University of Reims Champagne Ardenne
- Harter-Lailheugue, S., 2006. *Étude paléoparasitologique du site de Marseille Quai Rive-Neuve* In Bien, S., Richier, A., 23, quai de Rive-Neuve à Marseille (Bouches-du-Rhône) : sous les pavés, la plage.... Rapport d'opération, Inrap-SRA Provence-Alpes-Côte d'Azur, 91-95
- Hassl A., 2005. [The classical parasite: from appreciative partners of the gods to serving as jesters]. *Wien Klin Wochenschr*, 117 Suppl 4, pp. 2-5
- Hawass, Z., Gad, Y.Z., Ismail, S., Fathalla, D., Hasan., N., Ahmed, A., Elleithy, H., Ball, M., Gaballah, F., Wasel, S., Fateen, M., Amer, H., Gostner, P., Selim, A., Zink, A., Pusch, C.M., 2010. Ancestry and Pathology in King Tutankhamun ' s Family. *JAMA*, 303(7):638-647. doi:10.1001/jama.2010.121

- Hay, S.I., Guerra, C.A., Tatem, A .J., Noor, A.M., Snow, R.W., 2004. The global distribution and population at risk of malaria: past, present, and future. *Lancet Infectious Diseases*, 4(6), 327-336. doi: 10.1016/S1473-3099(04)01043-6
- Heather, P. J., 2006. *La caduta dell'Impero romano: una nuova storia*, Milano, Garzanti.
- Hebsgaard, M.F.B., Gilbert, T.P., Arneborg, J., *et al.*, 2009. 'The Farm Beneath the Sand' – an archaeological case study on ancient 'dirt' DNA. *Antiquity*, 83:430-444. doi: 10.1017/S0003598X00098537
- Heirbaut, E., Jones, A.K.G., Wheeler, W., 2011. Archaeometry: methods and analysis *In* Jansen, G.C.M., Koloski-Ostrow, A.O., Moormann, E.M., (ed), *Roman Toilets: Their Archaeology and Cultural History*. Peeters, Leuven, Belgium, 7-20
- Hershkovitz, I., Donoghue, H.D., Minnikin, D.E., Besra, G.S., Lee, O.Y.C., Gernaey, A.M., 2008. Detection and molecular characterization of 9000-year-old *Mycobacterium tuberculosis* from a neolithic settlement in the Eastern mediterranean. *PLoS ONE*, 3(10): e3426 . doi: 10.1371/journal.pone.0003426
- Hershkovitz, I., Donoghue, H.D., Minnikin, D.E., May, H., Lee, O.Y.C., Feldman, M., Galili, E., Spigelman, M., Rothschild, B.M., Bar-Gal, G.K., 2015. Tuberculosis origin: The Neolithic scenario. *Tuberculosis*, 95(1), doi: 10.1016/j.tube.2015.02.021
- Hibbs, A.C., Secor, W.E., van Gerven, D., Armelagos, G., 2011. Irrigation and Infection: The Immunoepidemiology of Schistosomiasis in Ancient Nubia. *American Journal of Physical Anthropology*, 145(2):290-298. doi: 10.1002/ajpa.21493
- Higuchi R, Bowman B, Freiberger M, Ryder OA, Wilson AC (1984) DNA sequences from the quagga, an extinct member of the horse family. *Nature* 312:282–284. doi: 10.1038/312282a0
- Hillbrand M, van Geel B, Hasenfratz A (2014) Non-pollen palynomorphs show human and livestock induced eutrophication of Lake Nussbaumersee (Thurgau, Switzerland) since Neolithic times (3840 BC). *The Holocene* 24:559-568. doi: 10.1177/0959683614522307
- Hoepli, R., 1956. The knowledge of parasites and parasitic infections from ancient times to the 17th century. *Experimental Parasitology*, 5, 4, pp. 398-419.
- Holloway, K.L., Henneberg, R.J., de Barros Lopes, M., Henneberg, M., 2011. Evolution of human tuberculosis: A systematic review and meta-analysis of paleopathological

- evidence. *HOMO- Journal of Comparative Human Biology*, 62(6):402–458. doi: 10.1016/j.jchb.2011.10.001
- Hopkins, D.R., 1980. Ramses V: earliest known victim? *World Health*, 22-26
- Horden, P., 2018. Mediterranean Antiquity *In* White, S., Mauelshagen, F., Pfister, C., (Eds) *The Palgrave Handbook of Climate History*. Palgrave MacMillan, London. Pp. 183-188
- Horden, P., Purcell, N., 2000. *The corrupting sea. A study of mediterranean history*. Blackwell, Oxford
- Horne, P.D., 2002. First evidence of enterobiasis in ancient Egypt. *The Journal of Parasitology*, 88(5):1019–1021. doi: 10.1645/0022-3395(2002)088[1019:FEOEIA]2.0.CO;2
- Horne, P.D., Lewin, P.K., 1977. Autopsy of an Egyptian mummy. 7. Electron microscopy of mummified tissue. *Canadian Medical Association Journal*, 117(5):472-473
- Horne, P.D., Redford, S., 1995. Aspergillosis and dracunculiasis in mummies from the tomb of Parannefer. *Paleopathology Newsletter* 92: 10-12
- Horton J (2014) Helminth-Nematode: *Trichuris trichiura*. *Encyclopedia of Food Safety* 2:111-115. doi: 10.1016/B978-0-12-378612-8.00146-3
- Howard, SC., Donnell, CA., Chan, MS., 2001. Methods for estimation of associations between multiple species parasite infections. *Parasitology*, 122(2):233-51. doi: 10.1017/s0031182001007272
- Huchet, J.B., Callou, C., Lichtenberg, R., Dunand, F., 2013. The dog mummy, the ticks and the louse fly: Archaeological report of severe ectoparasitosis in Ancient Egypt. *International Journal of Paleopathology*, 3(3):165–175. doi: 10.1016/j.ijpp.2013.07.001
- Hughes, J. D., 2005. *The Mediterranean: an environmental history*. ABC-CLIO, Santa Barbara, 363 p..
- Hughes, J. D., 2014. *Environmental Problems of the Greeks and Romans*. Johns Hopkins University Press, Baltimore, 320 p.
- Hughes, J. D., 2016. *What is Environmental History?* 2nd ed, Polity Press, Cambridge. 192 p.

- Hugot, J.-P., Gardner, S.L., Borba, V., Araujo, P., Leles, D., Da-Rosa, A.A.S., Dutra, J., Ferreira, L.F., Ara_ujo, A., 2014. Discovery of a 240 million year old nematode parasite egg in a cynodont coprolite sheds light on the early origin of pinworms in vertebrates. *Parasites Vectors* 7, 486e494. doi: 10.1186/s13071-014-0486-6
- Huldén, L., Huldén, L., Heliövaara, K., 2005. Endemic malaria: an ‘indoor’ disease in northern Europe. Historical data analysed. *Malaria Journal*, 4, 19. doi: 10.1186/1475-2875-4-19
- Iñiguez, AM., Araújo, A., Ferreira, LF. and Vicente, ACP., 2003. Analysis of ancient DNA from coprolites: a perspective with random amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction approach. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz* 98(Suppl. 1), 63–65
- Iñiguez, AM., Reinhard, K., Carvalho Gonçalves, ML., Ferreira, LF., Araújo, A. and Paulo Vicente, A. C., 2006. SL1 RNA gene recovery from *Enterobius vermicularis* ancient DNA in pre-Columbian human coprolites. *International Journal for Parasitology* 36, 1419–1425
- Iqbal, J., Sher, A., Rab, A., 2000. Plasmodium falciparum Histidine-Rich Protein 2-Based Immunocapture Diagnostic Assay for Malaria: Cross-Reactivity with Rheumatoid Factors. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(3): 1184-1186
- Isherwood, I., Jarvis, H., Fawcett, R.A., 1979. Radiology of the Manchester mummies *In* David, A.R., Tapp, E., (ed.), *Evidence Embalmed: Modern Medicine and the Mummies of Ancient Egypt*, Manchester University Press, Manchester, 25-64
- Jaeger, L.,H., Iniguez, A.M., 2014. Molecular paleoparasitological hybridization approach as effective tool for diagnosing human intestinal parasites from scarce archaeological remains. *PloS ONE*, 9(8):e105910. doi: 10.1371/journal.pone.0105910
- Jarman, MR., 1996. Human influence in the development of the Cretan mammalian fauna *In* Reese, D.S. (ed), *Pleistocene and Holocene fauna of Crete and its First Settlers*. Monographs in World Archaeology 28, Prehistory Press, Philadelphia, p. 211-229
- Jean, K., Burnside, W.R., Carlson, L., Smith, K., Guégan, J.-F., 2016. An equilibrium theory signature in the island biogeography of human parasites and pathogens. *Global Ecology and Biogeography*, 25, 107-116. doi: 10.1111/geb.12393
- Jouffroy-Bapicot, I., Vannièrè, B., Iglesias, V., Debret, M., Delarras, J.F., 2016. 2000 years of grazing history and the making of the Cretan Mountain Landscape, Greece. *PloS ONE* 11(6): e0156875. doi: 10.1371/journal.pone.0156875

- Jourdan, P.M., Lamberton, P.H.L., Fenwick, A., Addiss, D.G., 2017. Soil-transmitted helminth infections. *The Lancet* 391(10117):252-265. doi: 10.1016/S0140-6736(17)31930-X
- Jouy-Avantin, F., Combes, C., de Lumley, H., Miskovsky, J.C., Moné, H., 1999. Helminth Eggs in Animal Coprolites from a Middle Pleistocene Site in Europe. *J. Parasitol*, 85(2):376–379
- Jouy-Avantin, F., Moné, H., 2003, Etude des paléoparasites de la zone 123. *Lattara*, 16, 87-92
- Justine, J.-L., Ferté, H., 1989. *Capillaria bovis* (Nematoda, Capillariinae) parasite du Mouflon, du Daim et du Chevreuil en France. Liste des hôtes dans le Monde. *Bulletin du Muséum national d'Histoire naturelle*, 4(11) :79-96
- Kaur, T., Singh, J., 2009. Primate-parasitic zoonoses and anthroozoonoses: a literature review. In: Huffman, M.A., Chapman, C.A. (Eds.), *Primate Parasite Ecology, the Dynamics and Study of Host-Parasite Relationships*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 199-230
- Khairat, R., Ball, M., Chang, C.C.H., Bianucci, R., Nerlich, A.G., Trautmann, M., Ismail, S., Shanab, G.M., Karim, A.M., Gad, Y.Z., Pusch, C.M., 2013. First insights into the metagenome of Egyptian mummies using next-generation sequencing. *Journal of Applied Genetics*, 54(3):309–325. doi: 10.1007/s13353-013-0145-1
- Knorr, D. A., Smith, W. P. W., Ledger, M., Pena-Chocarro, L., Perez-Jorda, G., Clapes, R., de Fatima Palma, M., Mitchell., P. D., 2019. Intestinal parasites in six Islamic medieval period latrines from 10th-11th century Cordoba (Spain) and 12th-13th century Mertola (Portugal). *International Journal of Paleopathology*, 26:75-83. doi : 10.1016/j.ijpp.2019.06.004
- Koloski-Ostrow, AO., 2015. *The Archaeology of Sanitation in Roman Italy. Toilets, Sewers, and Water Systems*. The University of North Carolina Press, Chapel Hill
- Labandeira, C.C., Prevec, R., 2014. Plant paleopathology and the roles of pathogens and insects. *International Journal of Paleopathology*, 4, 1–16. doi: 10.1016/j.ijpp.2013.10.002
- Laferi, H., Kandel, K., & Pichler, H. 1997. False Positive Dipstick Test for Malaria. *New England Journal of Medicine*, 337(22), 1635–1636. doi:10.1056/nejm199711273372219
- Lagia, A., 2014. *Health Inequalities in the Classical City: A Biocultural Approach to Socio-economic Differentials in the Polis of Athens during the Classical*,

- Hellenistic and Imperial Roman Periods in Gilles, A.-C., (ed) *Corps, Travail et Statut Social: L'Apport de la Paléanthropologie Funéraire aux Sciences Historiques*. Presses Universitaires du Septentrion, Lille, p. 95-115
- Lagia, A., 2015. Diet and the Polis : An Isotopic Study of Diet in Athens and Laurion during the Classical, Hellenistic and Imperial Roman Periods in Papatthanasiou, A., (ed) *Archaeodiet in the Greek World from Stable Isotope Analysis*. Hesperia Supplement 49, Athens, p. 119-145
- Lalremruata, A., Ball, M., Bianucci, R., Welte, B., Nerlich, A. G., Kun, J.F.J., Pusch, C.M., 2013. Molecular Identification of *Falciparum Malaria* and Human Tuberculosis Co-Infections in Mummies from the Fayum Depression (Lower Egypt). *PLoS ONE*, 8(4), e60307. doi: 10.1371/journal.pone.0060307
- Langgut, D., Shahack-gross, R., Arie, E., Namdar, D., Amrani, A., Le Bailly, M., Finkelstein, I., 2016. Micro-archaeological indicators for identifying ancient cess deposits: An example from Late Bronze Age Megiddo , Israel. *Journal of archaeological Science Reports*, 9, 375–385. doi: 10.1016/j.jasrep.2016.08.013
- Larson, G., Dobney, K., Albarella, U., Fang, M., Matisoo-Smith, E., Robins, J., *et al.*, 2005. Worldwide phylogeography of wild boar reveals multiple centers of pig domestication. *Science*, 307: 1618–1621. doi: 10.1126/science.1106927
- Lartigot-Campin, A.S., 2012. *Essai de parasitologie [Palaeoparasitology Essay]*. Bulletin du Musée d'Anthropologie préhistorique de Monaco. 54, 31-38
- Lartigot-Campin, A.S., Mone, H., 2017. Preliminary palynological and parasitological analyses of carnivore coprolites from the Mousterian site of les ramandils (port-lanouvelle, aude, france). *Quaternaire*, 28(2), 217-224. doi: 10.4000/quaternaire.8130
- Le Bailly, M., 2005. Evolution de la relation hôte/parasite dans les systèmes lacustres nord alpins au Néolithique (3900-2900 BC), et nouvelles données dans la détection des paléoantigènes de Protozoa. PhD Thesis
- Le Bailly, M., Araujo, A., 2016. Past Intestinal Parasites. *Microbiology Spectrum*, 4(4):PoH-0013-2015. doi: 10.1128/microbiolspec.PoH-0013-2015
- Le Bailly, M., Bouchet, F., 2006. Paléoparasitologie et immunologie. L'exemple d'*Entamoeba histolytica*. *Archéosciences*, 30, 129–135
- Le Bailly, M., Bouchet, F., 2010. Ancient microcoeliosis: Occurrence, distribution and migration. *Acta Tropica*, 115:175-180. doi: 10.1016/j.actatropica.2010.03.004

- Le Bailly, M., Bouchet, F., 2013. Diphylobothrium in the past: Review and new records. *International Journal of Paleopathology*, 3(3):182–187. doi: 10.1016/j.ijpp.2013.05.004
- Le Bailly, M., Bouchet, F., 2015. A first Attempt to Retrace the History of Dysentery Caused by *Entamoeba histolytica* *In* Mitchell, P.D., (ed). *Latrines and Intestinal Parasites in Past Populations*, Ashgate, Farnham, 219-228
- Le Bailly, M., Goepfert, N., Prieto, G., Verano, J., Dufour, B., 2019. Camelid Gastrointestinal Parasites from the Archaeological Site of Huanchaquito (Peru): First Results. *Environmental Archaeology* 1-8. doi:10.1080/14614103.2018.1558804
- Le Bailly, M., Landolt, M., Bouchet, F., 2012. First World War German Soldier Intestinal Worms: An Original Study of a Trench Latrine in France. *Journal of Parasitology*, 98(6):1273-1275. doi: 10.1645/ge-3200.1
- Le Bailly, M., Maicher, C., Dufour, B., 2016. Archaeological occurrences and historical review of the human amoeba, *Entamoeba histolytica*, over the past 6000 years. *Infection, Genetics and Evolution*, 42, 34–40. doi: 10.1016/j.meegid.2016.04.030
- Le Bailly, M., Mouze, S., Da Rocha, G.C., Heim, J.-L., Lichtenberg, R., Dunand, F., Bouchet, F., 2010. Identification of *Taenia* sp. in a mummy from a Christian necropolis in El-Deir, Oasis of Kharga, ancient Egypt. *Journal of Parasitology* 96, 213–215. doi: 10.1645/GE-2076.1
- Le Bailly, M., Bouchet, F., 2010. Ancient dicrocoeliosis: Occurrence, distribution and migration. *Acta Tropica* 115:175-180. doi: 10.1016/j.actatropica.2010.03.004
- Lebreton, V., Lartigot, A.-S., Karatsori, E., Messenger, E., Marquer, L., Renault-Miskovsky, J., 2007. Potentiels et limites de l'analyse pollinique des spéléothèmes quaternaires : applications à la reconstitution de l'environnement végétal de l'homme préhistorique sur le pourtour nord-méditerranéen. *Quaternaire*, 18(2), 153-174
- Ledger, M., 2019. Intestinal parasites in the Roman Empire, their regional distribution and ecosocial determinants. Phd Thesis, University of Cambridge
- Ledger, M. L., Stock, F., Schwaiger, H., Knipping, M., Brückner, H., Ladstätter, S., & Mitchell, P. D. 2018. Intestinal parasites from public and private latrines and the harbour canal in Roman Period Ephesus, Turkey (1st c. BCE to 6th c. CE). *Journal of Archaeological Science: Reports*, 21, 289–297. doi:10.1016/j.jasrep.2018.07.013

- Ledger, M., Anastasiou, E., Shilito, L.-M., Mackay, H., Bull, I.D., Haddow, S., D., Knüsel, C.J., Mitchell, P.D., 2019. Parasite infection at the early farming community of Çatalhöyük. *Antiquity*, 93(369):573-587. doi: 10.15184/aqy.2019.61
- Ledger, M.L., Micarelli, I., Ward, D., Prowse, T.L., Carroll, M., Killgrove, K., ... Mitchell, P.D., 2021. Gastrointestinal infection in Italy during the Roman Imperial and Longobard periods: A paleoparasitological analysis of sediment from skeletal remains and sewer drains. *International Journal of Paleopathology*, 33, 61–71. doi:10.1016/j.ijpp.2021.03.001.
- Leles D, Gardner SL, Reinhard K, Iniguez A, Araujo AG., 2012. Are *Ascaris lumbricoides* and *Ascaris suum* a single species? *Parasites & Vectors* 5:42. doi: 10.1186/1756-3305-5-42
- Leles, D., Araújo, A., Ferreira, LF., Vicente, ACP. and Iñiguez, AM., 2008. Molecular paleoparasitological diagnosis of *Ascaris* sp. from coprolites: new scenery of ascariasis in pre-Colombian South America times. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz* 103, 106–108
- Leles, D., Cascardo, P., Freire, ADS., Maldonado, A., Sianto, L. and Araújo, A., 2014. Insights about echinostomiasis by paleomolecular diagnosis. *Parasitology International* 63, 646–649
- Leles, D., Cascardo, P., Pucu, E., Brener, B., Sudré, A., Alves, E., Uchoa, F., Fajardo, P., Millar, P., Mattos, D., Chame, M., Cartelle, C., 2018. Methodological innovations for the study of irreplaceable samples reveal giardiasis in extinct animals (*Nothrotherium maquinense* and *Palaeolama maior*). *Parasitology International* 67(6):776-780. doi: 10.1016/j.parint.2018.07.011
- Lesles, D., Araujo, A., Vicente, A.C., 2010. ITS1 intra-individual variability of *Ascaris* isolates from Brazil. *Parasitology International*, 59(1):93-96. doi: 10.1016/j.parint.2009.10.001
- Lelli, P., 2007. *Sintesi interpretativa della sequenza stratigrafica*, in Francovich, R., Cantini F., Cianferoni C., Scampoli E. (a cura di), *Firenze prima degli Uffizi. Lo scavo di via de' Castellani: contributi per un'archeologia urbana fra tardo antico ed età moderna*, Florence, pp. 141-145
- Lelli, P., Spezi, L., 2007. *Nota preliminare sulle stratigrafie archeologiche*, in Francovich, R., Cantini F., Cianferoni C., Scampoli E. (a cura di), *Firenze prima degli Uffizi. Lo scavo di via de' Castellani: contributi per un'archeologia urbana fra tardo antico ed età moderna*, Florence, pp. 146-79
- Lewin, P., 1984. Mummy riddles unraveled. *Bulletin of the Microscopical Society of Canada*, 12:3–8

- Lewis, M., 2010. Life and Death in Civitas Capital: Metabolic Disease and Trauma in Children from Late Roman Dorchester, Dorset. *American Journal of Physical Anthropology*, 142:405-416. doi: 10.1002/ajpa.21239
- Li, H.C., Fujiyoshi, T., Lou, H., Yashiki, S., Sonoda, S., Cartier, L., Nunez, L., Munoz, I., Horai, S., Tajima, K., 1999. The presence of ancient human T-cell lymphotropic virus type I provirus DNA in an Andean mummy. *Nature Medicine*, 5(12):1428-32. doi: 10.1590/S0102-311X2003000500002
- Lindahl, T. (1993). Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature*, 362(6422), 709–715. doi:10.1038/362709a0
- Littlewood, D.T.J., 2006. The Evolution of Parasitism in Flatworms, *in* (Eds) Aaron G. Maule et Nikki J. Marks *Parasitic flatworms : molecular biology, biochemistry, immunology and physiology*. CABI, Wallingford, pp. 1-36
- Littlewood, D.T.J., Donovan, S.K., 2003. Fossil parasites: a case of identity. *Geol. Today* 19, 136e142. doi: 10.1046/j.1365-2451.2003.00406.x
- Littman, R.J., 2009. The Plague of Athens : Epidemiology and Paleopathology. *The Mount Sinai Journal of Medicine*, 76(5)456–467. doi: 10.1002/msj.20137
- Liu, WQ., Liu, J., Zhang, JH., Long, XC., Lei, JH., & Li, YL., 2007. Comparison of ancient and modern *Clonorchis sinensis* based on ITS1 and ITS2 sequences. *Acta Tropica*, 101(2), 91–94. doi:10.1016/j.actatropica.2006.08.010
- Lloyd, G.E.R., *Une histoire de la science grecque*, 1993. Points, 425 p.
- López-Sáez JA, Glais A, Tsiftsis S, Lepez L (2018) Modern pollen–vegetation relationships along an altitudinal transect in the Lefka Ori massif (western Crete, Greece). *Review of Palaeobotany and Palynology* 259:159–170. doi:10.1016/j.revpalbo.2018.10.006
- Loreille, O., Roumat, E., Verneau, O., Bouchet, F., & Hänni, C., 2001. Ancient DNA from *Ascaris*: extraction amplification and sequences from eggs collected in coprolites. *International Journal for Parasitology*, 31(10), 1101–1106. doi:10.1016/s0020-7519(01)00214-4
- Love, M., 2007. *Analysis of Calcareous Deposits from the Down Pipes of First Century Pompeii*. University of Bradford
- Ludovic Orlando, Aurélien Ginolhac, Guojie Zhang, Duane Froese, Anders Albrechtsen, Mathias Stiller, Mikkel Schubert, Enrico Cappellini, Bent Petersen, Ida Moltke, Philip L. F. Johnson, Matteo Fumagalli, Julia T. Vilstrup, Maanasa Raghavan, Thorfinn Korneliussen, Anna-Sapfo Malaspinas, Josef Vogt, Damian Szklarczyk, Christian D. Kelstrup, Jakob Vinther, Andrei Dolocan, Jesper Stenderup, Amhed M. V. Velazquez, James Cahill, Morten Rasmussen, Xiaoli Wang, Jiumeng Min, Grant D. Zazula, Andaine Seguin-Orlando, Cecilie Mortensen, Kim Magnussen,

- John F. Thompson, Jacobo Weinstock, Kristian Gregersen, Knut H. Røed, Véra Eisenmann, Carl J. Rubin, Donald C. Miller, Douglas F. Antczak, Mads F. Bertelsen, Søren Brunak, Khaled A. S. Al-Rasheid, Oliver Ryder, Leif Andersson, John Mundy, Anders Krogh, M. Thomas P. Gilbert, Kurt Kjær, Thomas Sicheritz-Ponten, Lars Juhl Jensen, Jesper V. Olsen, Michael Hofreiter, Rasmus Nielsen, Beth Shapiro, Jun Wang & Eske Willerslev, 2013. Recalibrating Equus evolution using the genome sequence of an early Middle Pleistocene horse. *Nature*, 499(7456):74-78. doi: 10.1038/nature12323
- MacArthur, R.H., Wilson, E.O., 1967. *The theory of island biogeography*. Princeton University Press, Princeton, NJ
- MacKinnon, MR., 2004. *Animal Production and Consumption in Roman Italy: The Zooarchaeological and Textual Evidence*. University of Alberta, PhD Thesis
- Maczel, M., Dutour, O., Ardagna, Y., Panuel, M., Zink, A., Nerlich A.G., Palfi, G., 2005. La série medieval de l'Abbaye de la Celle, Var : Données anthropologiques et paléopathologiques. *L'homme et ses images : mesures, représentations, constructions*. Marseille, France, 393-402
- Madden, M., Salo, W. L., Streitz, J., Aufderheide, AC., Fornaciari, G., Jaramillo, C., ... Guhl, F., 2001. Hybridization Screening of Very Short PCR Products for Paleoepidemiological Studies of Chagas' Disease. *BioTechniques*, 30(1), 102–109. doi:10.2144/01301st07
- Magi, B., Frati, E., Bernini, L., Sansoni, A., Zanelli, G., 2009. *Dicrocoelium dendriticum*: a true infection? *Infezioni in Medicina* 17(2):115-116
- Maicher, C., 2019. *Evolution des relations homme/parasite/environnement au Néolithique : Approche intégrée et premiers essais de spatialisation sur les sites lacustres européens*, PhD Thesis
- Maicher, C., Hoffmann, A., Côté, N. M., Palomo Pérez, A., Saña Seguí, M., Le Bailly, M., 2017. Paleoparasitological investigations on the Neolithic lakeside settlement of La Draga (Lake Banyoles, Spain). *The Holocene*, 27(2):095968361770223. doi: 10.1177/0959683617702236
- Marciniak, S., Prowse, T.L., Herring, D.A., Klunk, J., Kuch, M., Duggan, AT., Bondioli, L., Holmes, E.C., Poinar, H.N., 2016. *Plasmodium falciparum* malaria in 1st–2nd century CE southern Italy. *Current Biology*, 26(23), R1220–R1222. doi: 10.1016/j.cub.2016.10.016
- Marennikova, S.S., Shelukhina, E.M., Zhukova, O.A., Yanova, N.N., Loparev, V.N., 1990. Smallpox diagnosed 400 years later: results of skin lesions examination of

16th century Italian mummy. *Journal of hygiene, epidemiology, microbiology, and immunology*, 34(2):227-31

Mariotti, V., Dutour, O., Belcastro, M.G., Facchini, F., Brasili, P., 2005. Probable early presence of leprosy in Europe in a Celtic skeleton of the 3rd-4th century BC (Casalecchio di Reno, Bologna, Italy). *International Journal of Osteoarchaeology*, 15:311-325. doi: 10.1002/oa.775

Marsh, G. P., 2003. *Man and Nature: Or, Physical Geography As Modified by Human Action*. University of Washington Press, Washington, 512 p.

Martinón-Torres, M., Killick, D., 2016. Archaeological Theories and Archaeological Sciences, in Gardner et al., (Eds) *The Oxford Handbook of Archaeological Theory*, doi:10.1093/oxfordhb/9780199567942.013.004

Martinson, E., Reinhard, K., Buikstra, J.E., Dittmar de la Cruz, K., 2003 Pathoecology of Chiribaya parasitism. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 98:195-205. doi: 10.1590/S0074-02762003000900029

Masseti, M., 2012. *Atlas of terrestrial mammals of the Ionian and Aegean islands*. De Gruyter, Berlin

Matheson, C.D., David, R., Spigelman, M., Donoghue, H.D., 2014. Molecular confirmation of *Schistosoma* and family relationship in two ancient Egyptian mummies *In* Gill-Frerking, H., Rosendahl, W., Zink, A.R., Alterauge, A., (ed). *Yearbook of Mummy Studies Volume 2*, 39-47

Matheson, C.D., Vernon, K.K., Lahti, A., Fratpietro, R., Spigelman, M., Gibson, S., Greenblatt, C.L., Donoghue, H.D., 2009. Molecular exploration of the first-century Tomb of the Shroud in Akeldama, Jerusalem. *PLoS One.*, 4:e8319. doi: 10.1371/journal.pone.0008319

Matthews, B.E., 1998. *An introduction to Parasitology*. Cambridge University Press, Cambridge

Mavridis, F., 2003. Early island archaeology and the extinction of endemic fauna in the eastern Mediterranean: problems of interpretation and methodology. *British School at Athens Studies* 9:65-74

McNeill, H. W., 1998. *Plagues and People*. Anchor Books, New York, 353 p.

McNeill, J. R., 2004. *The mountains of the mediterranean world : an environmental history*. Cambridge University Press, Cambridge, 448 p.

Meana A., Mateos A., Pato N. F., Pérez J., 2002. First report of *Anoplocephala magna* (Abildgaard, 1789) in Spain. *Revista Ibérica de Parasitología*, 64, 3-4, pp. 93-95

- Mehlhorn, H., (ed) 2001. *Encyclopedic Reference of Parasitology*, 2nd edition, Springer, Berlin
- Meinzer, N.J., Steckel, R.H., Baten, J., 2018. Agricultural Specialization, Urbanization, Workload, and Stature in Steckel, R.H., Larsen, C.S., Roberts, C., Baten, J., (ed) *The Backbone of Europe – Health, Diet, Work, and Violence over Two Millennia*. Cambridge University Press, Cambridge, p. 231-252
- Melosi, M., 2004. *Garbage In The Cities: Refuse, Reform, And The Environment*. University of Pittsburgh Press, Pittsburgh, 320 p.
- Melosi, M., 2008. *The Sanitary City: Environmental Services in Urban America from Colonial Times to the Present*. University of Pittsburgh Press, Pittsburgh, 400 p.
- Michalik, D.E., Clarke, E.M., Thomas, G.S., 2015. Heavy parasite burden in an Egyptian mummy. *Journal of Cardiology*, 65(4):349–350. doi: 10.1016/j.jjcc.2014.10.007
- Miller, R.L., Armelagos, G.J., Ikram, S., de Jonge, N., Krijger, F.W., Deelder, A.M., 1992 Palaeoepidemiology of schistosoma infection in mummies. *The British Medical Journal*, 304(6826):555–556. doi: 10.1136/bmj.304.6826.555
- Miller, R.L., Ikram, S., Armelagos, G.J., Walker, R., Harer, W.B., Shiff, C.J., Baggett, D., Carrigan, M., Maret, S.M., 1994. Diagnosis of *Plasmodium falciparum* infections in mummies using the rapid manual Para Sight™-F test. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 88(1):31–32. doi: 10.1016/0035-9203(94)90484-7
- Minnikin, D.E., Besra, G.S., Lee, O.Y.-C., Spigelman, M., Donoghue, H.D., 2011. The interplay of DNA and lipid biomarkers in the detection of tuberculosis and leprosy in mummies and other skeletal remains. In: Gill-Frerking, H., Rosendahl, W., Zink, A., Piombini-Mascali, D., (ed). *Yearbook of Mummy Studies*. Vol. 1. Munich, Germany: Verlag Dr. Friedrich Pfeil, p. 109-114
- Miras Y, Beauger A, Lavrieux M, Berthon V, Serieyssol K, Andrieu-Ponel V, Ledger PM (2015) Tracking long-term human impacts on landscape, vegetal biodiversity and water quality in the Lake Aydat catchment (Auvergne, France) using pollen, non-pollen palynomorphs and diatom assemblages. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 424:76–90. doi:10.1016/j.palaeo.2015.02.016
- Mitchell, P.D., 2013. The origins of human parasites: Exploring the evidence for endoparasitism throughout human evolution. *International Journal of Paleopathology* 3(3):191-198. doi: 10.1016/j.ijpp.2013.08.003
- Mitchell, P.D., 2015a. Human parasites in the Roman World: health consequences of conquering an empire. *Parasitology*, 144(1):48-58. doi: 10.1017/S0031182015001651.

- Mitchell, P.D., 2015b. Assessing the Impact of Sanitation upon Health in Early Human Populations from Hunter-gatherers to Ancient Civilisations, Using Theoretical Modelling in Mitchell, P.D., (ed) Sanitation, Latrines and Intestinal Parasites in Past Populations. Ashgate, Farnham, p. 5-17
- Mitchell, P.D., Anastasiou, E., Syon, D., 2011. Human intestinal parasites in crusader Acre: Evidence for migration with disease in the medieval period. *International Journal of Paleopathology*, 1(3–4):132–137. doi: 10.1016/j.ijpp.2011.10.005
- Mitchell, P.D., Stern, E., 2001. Parasitic intestinal helminth ova from the latrines of the 13th century crusader hospital of St. John in Acre, Israel *In* La Verghetta, M., Capasso, L. (ed). Proceedings of the XIIIth European Meeting of the Paleopathology Association. Edigrafital, Teramo,Chieti, Italy, 207-213
- Mitchell, P.D., Stern, E., Tepper, Y., 2008. Dysentery in the crusader kingdom of Jerusalem: an ELISA analysis of two medieval latrines in the City of Acre (Israel). *Journal of Archaeological Science*, 35(7):1849–1853. doi: 10.1016/j.jas.2007.11.017
- Mitchell, P.D., Tepper, Y., 2007. Intestinal parasitic worm eggs from a crusader period latrine in the city of Acre (Israel). *Levant* 39(1):91-95. doi: 10.1179/lev.2007.39.1.91
- Mitchell, P.D., 2017. Human parasites in the Roman World: health consequences of conquering an empire. *Parasitology*, 144(1):48-58. doi: 10.1017/S0031182015001651
- Molto, J.E., 2002. Leprosy in Roman period skeletons from Kellis 2, Dakhleh, Egypt in Roberts, C.A., Lewis, M.E., Manchester, K., (ed) The past and present of leprosy. Archaeological, historical, paleopathological and clinical approaches. Archaeopress, Oxford, p. 179-792
- Moncel, M.-H., Crégut-Bonnoure, E., Daujeard, C., Lartigot, A.-S., Lebon, M., Puaud, S., Boulbes, N., Croizet, S., 2008. Le site de la baune Flandin (commune d’Orgnac-l’Aven) : nouvelles données sur ce gisement du Paléolithique moyen. *Paléontologie humaine et préhistoire*, 7, 315-325
- Monot, M., Honoré, N., Garnier, T., Zidane, N., Sherafi, D., Paniz-Mondolfi, A., Matsuoka, M., Taylor, G.M., Donoghue, H.,D., Bouwman, A., Mays, S., Watson, C., Lockwood, D., Khamispour, A., Dowlati, Y., Jianping, S., Rea ,T.H., Vera-Cabrera, L., Stefani, M.M., Banu, S., MacDonald, M., Sapkota, B.R., Spencer, J.S., Thomas, J., Hasrshman, K., Singh, P., Busso, P., Gattiker, A., Rougemont, J., Brennan, P.J., Cole, S.T., 2009. Comparative genomic and phylogeographic

- analysis of *Mycobacterium leprae*. *Nature Genetics*, 41:1282-1289. doi: 10.1038/ng.477
- Montiel, R., García, C., Cañadas, M.P., Isidro, A., Guijo, J.M., Malgosa, A., 2003. DNA sequences of *Mycobacterium leprae* recovered from ancient bones. *FEMS Microbiology Letters*, 226:413-414
- Montiel, R., Solórzano, E., Díaz, N., Álvarez-Sandoval, B.A., González-Ruiz, M., Cañadas, M.P., Simoes, N., Isirido, A., Malgosa, A., 2012. Neonate human remains: A window of opportunity to the molecular study of ancient syphilis. *PLoS ONE*, 7(5):1–6. doi: 10.1371/journal.pone.0036371
- Moore, J.G., Fry, G.F., Englert Jr, E., 1969. Thorny-headed worm infection in North American prehistoric man. *Science*, 163:1324-1325
- Morley, N., 2005. The Salubrity of the Roman city *In* King, H., (ed) *Health in Antiquity*. Routledge, Oxon, p. 192-204
- Morris, S.C., Crompton, D.W.T., 1982. The origins and evolution of the Acanthocephala. *Biological Reviews*, 57(1):85-115. doi: 10.1111/j.1469-185X.1982.tb00365.x
- Moses, V., 2012. Status and meat consumption in Pompeii: diet and its social implications through the analysis of ancient sources and zooarchaeological remains. University of Michigan, Honors Thesis in the Department of Anthropology
- Moulé L., 1911. Parasitologie dans la littérature antique. II, Les Parasites du Tube Digestif. *Archives de parasitologie*, 14, pp. 353-383
- Mowlavi, G.R., Massoud, J., Mobedi, I., Solaymani-Mohammadi, S., Gharagozlou, M.J., Mas-Coma, S., 2006. Very highly prevalent *Macracanthorhynchus hirudinaceus* infection of wild boar *Sus scrofa* in Khuzestan province, south-western Iran. *Helminthologia*, 43:86–91. doi: 10.2478/s11687-006-0017-x
- Mulder, C., 2017. Pathogenic helminthes in the past: Much ado about nothing. *F1000Research*, 6:852. doi: 10.12688/f1000research.11752.3
- Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G., Erlich, H., 1986. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction
- Mumcuoglu, K.Y., 2008. Human lice: *Pediculus* and *Pthirus*. *Paleomicrobiology: Past Human Infections*, 215–222. doi: 10.1007/978-3-540-75855-6_13
- Mumcuoglu, K.Y., Zias, J., 1988. Head lice, *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae) from hair combs excavated in Israel and dated from the first century

- BC to the eighth century AD. *Journal of medical entomology* 25(6):545–547. doi: 10.1093/jmedent/25.6.545
- Mumcuoglu, K.Y., Zias, J., Tarshis, M., Lavi, M., Stiebel, G.D., 2003. Body louse remains found in textiles excavated at Masada, Israel. *Journal of medical entomology*, 40(4):585–587. doi: 10.1603/0022-2585-40.4.585
- Murchie, T.J., Kuch, M., Duggan, A., Ledger, M., Roche, K., Klunk, J., Karpinski, E., Sadoway, T., Zazula, G., Froese, D., Poinar, H., 2020. Optimizing extraction and targeted capture of ancient environmental DNA for reconstructing past environments using PalaeoChip Arctic-1.0 bait-set. *Quaternary Research*, 1-24. doi: 10.1017/qua.2020.59
- Myšková, E., Ditrich, O., Sak, B., Kváč, M., & Cymbalak, T., 2014. Detection of Ancient DNA of *Encephalitozoon intestinalis*(Microsporidia) in Archaeological Material. *Journal of Parasitology*, 100(3), 356–359. doi:10.1645/13-232.1
- Namouchi, A., Guellil, M., Kersten, O., Hänsch, S., Ottoni, C., Schmid, B.V., Pacciani, E., Quaglia, L., Vermunt, M., Bauer, E.L., Derrick, M., Jensen, A.O., Kacki, S., Cohn, S.K., Stenseth, N.C., Bramanti, B., 2018. Integrative approach using *Yersinia pestis* genomes to revisit the historical landscape of plague during the Medieval Period. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(50), E11790-E11797. doi: 10.1073/pnas.1812865115
- Nerlich, A.G., Bianucci, R., Trisciuglio, A., Schönian, G., Ball, M., Giuffra, V., Bachmeier, B., Pusch, C.M., Ferroglio, E., Fornaciari, G., 2012. Visceral Leishmaniasis during Italian Renaissance, 1522-1562. *Emerging Infectious Diseases*, 18(1):184-186. doi: 10.3201/eid1801.102001
- Nerlich, A.G., Zink, A.R., 2008. Past leprae *in* Raoult, D., and Drancourt, M., (ed) *Paleomicrobiology, Past Human Infections*, Springer, p. 99-123
- Nerlich, AG., Schraut, B., Dittrich, S., Jelinek, T., Zink, AR., 2008. *Plasmodium falciparum* in Antient Egypt. *Emerging Infectious Diseases*, 14(8):1317-1319
- Nezamabadi, M., 2014. New contribution of paleoparasitology in the middle east and first data on the iranian plateau adjacent area. University of Bourgogne Franche-Comté
- Nicholls, H., 2005. Ancient DNA Comes of Age. *PLoS Biol* 3(2): e56. doi: 10.1371/journal.pbio.0030056
- Nicolet, Cl., Dumont, J.-Chr., Ferrary, J.-L., Moreau, Ph., 1980. *Insula sacra, La loi Gabinia-Calpurnia de Délos*, Ecole Française de Rome, Collection de l'Ecole Française de Rome 45

- Nicosia, C., Langohr, R., Mees, F., *et al.*, 2012. Medieval Dark Earth in an Active Alluvial Setting from the Uffizi Gallery Complex in Florence, Italy. *Geoarchaeology: An International Journal*, 27:105-122. doi: 10.1002/gea.21403
- Nikita, E., Lagia, A., Triantaphyllou, S., 2016. Epidemiology and Pathology in Irby, G.L., (ed) *A companion to science, technology, and medicine in ancient Greece and Rome*. Wiley Blackwell, Oxrod, p. 465-482
- Nobis, G., 1993. Zur antiken Wild und Hausuerfauna Kretas, nach Studien an Tierresten aus den archäologischen Grabungen Poros bei Irakion und Eléfthema bei Arkadhi. *Tier und Museum* 3:109-120
- Novo, S., Leles, D., Bianucci, R. and Araujo, A., 2015. *Leishmania tarentolae* molecular signatures in a 300 hundred-years-old human Brazilian mummy. *Parasites & Vectors* 8, 72
- Nozais, J.-P., 1996. Helminthoses animals parasites de l’homme à l’état adulte, pré-adulte in Nozais, J.-P., Datry, A., Danis, M., (ed) *Traité de parasitology médicale*, Editions pradel, Paris, p. 515-538
- Nunn, J.F., Tapp, E., 2000. Tropical diseases in ancient Egypt. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* , 94(2):147–153. doi: 10.1016/S0035-9203(00)90252-9
- O’Connor, T., Evans, J. G., 2005. *Environmental Archaeology*. Sutton Publishing, Stroud, 280 p.
- Oh, CS., Seo, M., Lim, NJ., Lee, SJ., Lee, EJ., Lee, SD., & Shin, DH. (2010). Paleoparasitological report on *Ascaris* aDNA from an ancient East Asian sample. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 105(2), 225–228. doi:10.1590/s0074-02762010000200020.
- Ortonto, D., Traversa, D., 2002. A review of dicrocoeliosis of ruminants including recent advances in the diagnosis and treatment. *Veterinary Parasitology*, 107:317-335. doi: 10.1016/s0304-4017(02)00121-8
- Otranto, D., Huchet, J.-B., Giannelli, A., Callou, C., & Dantas-Torres, F., 2014. The enigma of the dog mummy from Ancient Egypt and the origin of “*Rhipicephalus sanguineus*.” *Parasites & Vectors*, 7(1), 2. doi: 10.1186/1756-3305-7-2
- Pääbo, S., & Wilson, A. C. (1991). Miocene DNA sequences — a dream come true? *Current Biology*, 1(1), 45–46. doi:10.1016/0960-9822(91)90125-g
- Pacciani E, Albertini E, Baldi I, Gori S, Quaglia L. Strategie di emergenza: il seppellimento in corso di una moria di durata imprevedibile. In: Archeologia e antropologia della morte, ed. V. Nizzo, Vol. 1. Atti del 3° Incontro Internazionale

di Studi di Antropologia e Archeologia a confronto, Roma. Editorial Service System, 2018, pp. 185-194

Pálfi, G., Dutour, O., Perrin, P., Sola, C., & Zink, A., 2015. Tuberculosis in evolution. *Tuberculosis*, 95(1):S1–S3. doi: 10.1016/j.tube.2015.04.007

Pallecchi, P., 2006. *Considerazioni sull'antica morfologia del terreno tra piazza Signoria e la riva dell'Arno*, in Rocchi Coopmans De Yold G. (a cura di), *Teorie e storie dell'archeologia e del restauro nella città delle fabbriche arnofiane*, Florence, pp. 57-59

Palma, R.L., 1991. Ancient head lice on a wooden comb from Antinoe, Egypt. *Journal of Egyptian archaeology*, 77(1):194. doi: 10.1177/030751339107700124

Panagiotakopulu, E., Buckland, P.C., 2017. A thousand bites - Insect introductions and late Holocene environments. *Quaternary Science Reviews*, 156(15):23–35. doi: 10.1016/j.quascirev.2016.11.014

Panzer, S., Peschel, O., Haas-Gebhard, B., Bachmeier, BE., Pusch, CM., & Nerlich, AG., 2014. Reconstructing the Life of an Unknown (ca. 500 Years-Old South American Inca) Mummy – Multidisciplinary Study of a Peruvian Inca Mummy Suggests Severe Chagas Disease and Ritual Homicide. *PLoS ONE*, 9(2), e89528. doi:10.1371/journal.pone.0089528

Papagrigorakis, M.J., Yapijakis, C., Synodinos, P.N., 2008. Typhoid fever epidemic in ancient Athens *In* Raoult, D., Drancourt, M., (ed), *Paleomicrobiology: Past Human Infections* (pp/ 161–173). doi: 10.1007/978-3-540-75855-6_10

Papagrigorakis, M.J., Yapijakis, C., Synodinos, P.N., Baziotopoulou-Valavani, E., 2006. DNA examination of ancient dental pulp incriminates typhoid fever as a probable cause of the Plague of Athens. *International Journal of Infectious Diseases*, 10(3):206-14. doi: 10.1016/j.ijid.2005.09.001

Paz-Silva, A., Arias, M., Francisco, I., Cortinas, F.J., Francisco, R., Diaz, P., Suarez, J.L., Diez-Banos, P., Morrondo, P., Sanchez-Andrade, R., 2010. Cross-immunity and Interpretation of the Diagnostics of Parasitic Trematodosis in Ruminants by Means of Immunoenzymatic Probes in LaMann, G.V., (ed) *Veterinary Parasitology*, Nova Biomedical Press, New York, p. 271-288

Peng, W., Yuan, K., Hu, M., 2005. Mutation scanning-coupled analysis of haplotypic variability in mitochondrial DNA regions reveals low gene flow between human and porcine *Ascaris* in endemic regions of China. *Electrophoresis*, 26(22):4317-4326. doi: 10.1002/elps.200500276

Peng, W., Yuan, K., Zhou, X., 2003. Molecular epidemiological investigation of *Ascaris* genotypes in China based on single-strand conformation polymorphism analysis of ribosomal DNA. *Electrophoresis*, 24(14):2308-2315. doi: 10.1002/elps.200305455

- Penso G., 1981. La Conquête du monde invisible parasites et microbes à travers les siècles. Première éd. française révisée et augmentée éd., R. Dacosta, Paris
- Perri, A.R., Power, R.C., Stuijts, I., Heinrich, S., Talamo, S., Hamilton-Dyer, S., Roberts, C., 2018. Detecting hidden diets and disease: Zoonotic parasites and fish consumption in Mesolithic Ireland. *Journal of Archaeological Science*, 97:137-146. doi: 10.1016/j.jas.2018.07.010
- Pizzi, T., Schenone, H., 1954. Hallazgo de huevos de *Trichuris trichiura* en contenido intestinal de un cuerpo arqueologica incaico. *Boltein Chileno de Parasitologia* 9 :73-75
- Poinar, Jr. G.O., Hess, R., 1982. Ultrastructure of 40-million-year-old insect tissue. *Science* 215:1241–1242. doi: 10.1126/science.215.4537.1241
- Poinar Jr., G.O., 2011. *The Evolutionary History of Nematodes*. Brill Academic Publishers, Leiden
- Poinar Jr., G.O., 2012. New fossil nematodes in Dominican and Baltic amber. *Nematology* 14, 483-488. doi: 10.1163/156854111x612199
- Poinar Jr., G.O., 2014. Evolutionary history of terrestrial pathogens and endoparasites as revealed in fossils and subfossils. *Adv. Biol.* 2014, 1e29. doi: 10.1666/0022-3360(2004)078<0169:MATOPM>2.0.CO;2
- Poinar Jr., G.O., 2015. The Geological Record of Parasitic Nematode Evolution. *Advances in Parasitology*, 90, pp. 53-92. doi: 10.1016/bs.apar.2015.03.002
- Poinar Jr., G.O., Boucot, A., 2006. Evidence of intestinal parasites of dinosaurs. *Parasitology* 133, 245-249. doi: 10.1017/S0031182006000138
- Poinar Jr., G.O., Kerp, H., Hass, H., 2008. *Palaeonema phyticus* gen. n., sp. n. (Nematoda: Palaeonematidae fam. n.), a Devonian nematode associated with early land plants. *Nematology* 10, 9-14. doi: 10.1163/156854108783360159
- Poinar Jr., G.O., Yanoviak, S.P., 2008. *Myrmeconema neotropicum* n. g., n. sp., a new tetradonematid nematode parasitizing South American populations of *Cephalotes atratus* (Hymenoptera: Formicidae), with the discovery of an apparent parasite-induced host morph. *Syst. Parasitol.* 69, 145-153. doi: 10.1007/s11230-007-9125-3
- Poinar, G., 2003. A rhabdocoel turbellarian (Platyhelminthes, Typhlopanoidea) in Baltic amber with a review of fossil and sub-fossil platyhelminths. *Invertebrate Biology* 122, 308–312. doi: 10.1111/j.1744-7410.2003.tb00095.x
- Pybus, M.J., 2001. Endoparasites *In* Samuel WM, Pybus MJ, Kocan AA, (Eds) *Parasitic Diseases of Wild Mammals*, second edition, Iowa State University Press / Ames
- Rabino Massa, E., Cerutti, N., Savoia, A.M.D., 2000. Malaria in Ancient Egypt: paleoimmunological investigation on predynastic mummified remains. *Chungara*,

- Rabinow, S., Wang, T., Wilson, J.A., Mitchell, P.D., 2022. Using parasite analysis to identify ancient chamber pots: an example of the fifth century CE from Gerace, Sicily, Italy. *Journal of Archaeological Science: Reports*, 42. doi: 10.1016/j.jasrep.2022.103349
- Rafi, A., Spigelman, M., Stanford, J., Lemma, E., Donoghue, H., Zias, J., 1994. DNA of *Mycobacterium leprae* detected by PCR in an ancient bone. *International Journal of Osteoarchaeology*, 4:287-290
- Raoult, D., Aboudharam, G., Crubézy, E., Larrouy, G., Ludes, B., Drancourt, M., 2000. Molecular identification by suicide PCR of *Yersinia pestis* as the agent of medieval black death. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(23), 12800–12803. doi: 10.1073/pnas.220225197
- Raoult, D., Mouffok, N., Bitam, I., Piarroux, R., Drancourt, M., 2013. Plague: History and contemporary analysis. *Journal of Infection*, 66(1):18–26. doi: 10.1016/j.jinf.2012.09.010
- Rawlence, N.J., Lowe, D.J., Wood, J.R., *et al.*, 2014. Using palaeoenvironmental DNA to reconstruct past environments: progress and prospects. *Journal of Quaternary Science*, 29(7):610-626. doi: 10.1002/jqs.2740
- Redfern, R., DeWitte, S., 2011. A New Approach to the Study of Romanization in Britain: A Regional Perspective of Cultural Change in Late Iron Age and Roman Dorset Using the Siler and Gompertz-Makeham Models of Mortality. *American Journal of Physical Anthropology* 144(2):269-285. doi: 10.1002/ajpa.21400
- Redman, J.E., Shaw, M.J., Mallet, A.I., Santos, A.L., Roberts, C. a., Gernaey, A.M., & Minnikin, D.E., 2009. Mycocerosic acid biomarkers for the diagnosis of tuberculosis in the Coimbra Skeletal Collection. *Tuberculosis*, 89(4):267–277. doi: 10.1016/j.tube.2009.04.001
- Reinhard, K., 2008. Pathoecology of two ancestral pueblo villages, In Reitz EJ, Scarry M, Scudder SJ (ed) *Cases Studies in Environmental Archaeology*, Springer, p 191-209. doi: 10.1016/j.ijpp.2013.05.003
- Reinhard, K., Araujo, A.G., 2015. Prehistoric earth oven facilities and the pathoecology of chagas disease in the lower pecos canyonlands. *Journal of Archaeological Science* 53:227-234. doi: 10.1016/j.jas.2014.09.022

- Reinhard, K., Confalonieri, U.E., Hermann, B., Ferreira, L., Araujo, A.G., 1986. Recovery of Parasite Remains From Coprolites and Latrines: Aspects of Paleoparasitological Technique. *Homo* 37:217-239
- Reinhard, K., Ferreira, L., Bouchet, F., Sianto, L., Dutra, J.M.F., Iniguez, A., Leles, D., Le Bailly, M., Fugassa, M., Pucu, E., Araujo, A.G., 2013. Food, parasites, and epidemiological transitions: a broad perspective. *International Journal of Paleopathology* 3:150-157. doi: 10.1016/j.ijpp.2013.05.003
- Reinhard, K.J., 1992. Parasitology as an Interpretative Tool in Archaeology. *American Antiquity*, 57(2): 231-245. doi: 10.2307/280729
- Reinhard, K.J., Hevly, R.H., Anderson, G.A., 1987. Helminth remains from prehistoric Indian coprolites on the Colorado Plateau. *Journal of Parasitology*, 73:630-639
- Remicourt, M., Andrieu-Ponel, V., Audibert, C., Baradat, A., Battentier, J., Blaise, E., Bonnardin, S., Caverne, J.-B., Fernandes, P., Furestier, R., Girard, B., Lachenal, Lepère, C., Locatelli, C., Martin, L., Parisot, N., Ponel, P., Pousset, D., Rué, M., Schmitt, A., Sénépart, I., Thirault E., 2014. Les occupations pré et protohistoriques du Clos de Roque, à Saint-Maximin-la-Sainte-Baume (Var) *In* Sénépart, F., Leandri, J., Cauliez, T., Perrin, E., Thirault (ed). *Chronologie de la Préhistoire récente dans le Sud de la France. Acquis 1992-2012. Actualité de la recherche. Actes des 10e Rencontres Méridionales de Préhistoire Récente. Porticcio (France) – 18 au 20 Octobre 2012. Archives d'Écologie Préhistorique*, 523-548
- Renfrew, C., Bahn, P., 2008. *Archaeology : Theories, Methods and Practice* 5th ed, Thames and Hudson, London. 656 p.
- Reynam, T.A., Zimmerman, M.R., Lewin, P.K., 1977. Autopsy of an Egyptian mummy (Nakht--ROM I). 5. Histopathologic investigation. *Canadian Medical Association Journal*, 117(5):461-476
- Roberts, L.S., Janovy Jr, J., 2008. *Foundations of Parasitology*, 8th edition. McGraw-Hill, New York
- Roberts, L.S., Janovy, J., 2008. Digeneans: Plagiorchiformes and Opisthorchiformes *In* Roberts, L.S. (Ed) *Foundations of Parasitology*, 8th edition, Higher Education. pp. 277-294
- Roche, K., Capelli, N., Pacciani, E., Lelli, P., Pallecchi, P., Bianucci, R., Le Bailly, M., 2021. Gastrointestinal parasite burden in 4th-5th c. CE Florence highlighted by microscopy and paleogenetics. *Infection, Genetics and Evolution*, 90. doi: 10.1016/j.meegid.2021.104713

- Roche, K., Jouffroy-Bapicot, I., Vannière, B., Le Bailly, M., 2020. Ancient Parasites from a Peat bog: new insights into animal presence and husbandry in Crete over the past 2,000 years. *The Holocene*, 30(9), 1243-1253. doi: 10.1177/0959683620919984
- Roche, K., Pacciani, E., Bianucci, R., Le Bailly, M., 2019. Assessing the Parasitic Burden in a Late Antique Florentine Emergency Burial Site, *The Korean Journal of Parasitology*, 57(6), 587-593. doi: 10.3347/kjp.2019.57.6.587
- Roncalli A. R., 2001. The history of Italian parasitology. *Veterinary Parasitology*, 98, pp. 3-
- Ross, Z.P., Klunk, J., Fornaciari, G., Giuffra, V., Duchêne, S., Duggan, A.T., Poinar, D., Douglas, M.W., Eden, J.-S., Holmes, E.E., Poinar, H.N., 2018. The paradox of HBV evolution as revealed from a 16th century mummy. *PLOS Pathogens*, 14(2): e1006887 . doi: 10.1371/journal.ppat.1006750
- Roug , J., 1975. *La marine dans l'Antiquité*, Paris, PUF.Stien et Schartzbrod, 1990
- Roussel, P., 1916. D los, colonie athénienne. BEFAR 111
- Ruffer, M.A., 1910. Note on the Presence of “Bilharzia Haematobia” in Egyptian Mummies of the Twentieth Dynasty [1250-1000 B.C.]. *British Medical Journal*, 1(2557), 16. doi: 10.1136/bmj.1.2557.16-a
- Ruffer, M.A., 1913. Studies in palaeopathology in Egypt. *The Journal of Pathology and Bacteriology*, 18(1). doi: 10.1002/path.1700180116
- Sabato, D., Masi, A., Pepe., M., Ucchesu, M., Pena-Chocarro, L., Usai, A., Giachi, G., Capretti, C., Bacchetta, G., 2015. Archaeobotanical analysis of a Bronze Age well from Sardinia: A wealth of knowledge. *Plant Biosystems*. doi: 10.1080/11263504.2014.99831
- Sallares, R., Bouwman, A., Anderung, C., 2004. The Spread of Malaria to Southern Europe in Antiquity: New Approaches to Old Problems. *Medical History*, 48(3):311–328. doi: 10.1017/S0025727300007651
- Sallares, R., Gomzi, S., 2001. Biomolecular Archaeology of Malaria. *Ancient Biomolecules*, 3, 195-213
- Sánchez-Andrade, R., Paz-Silva, A., Suárez, J.L., Panadero, R., Pedreira, J., López, C., Díez-Ba os, P., Morrondo, P., 2002. Influence of age and breed on natural bovine

fasciolosis in an endemic area (Galicia NW Spain). *Veterinary Research Communications* 26: 361–370. doi: 10.1023/A:1016290727793

- Sandison A., 1967. Parasitic diseases. *In: Diseases in Antiquity: a survey of the diseases, injuries, and surgery of early populations.* Brothwell D., Sandison A. eds., Charles Thomas, Springfield, pp. 178-183
- Sarkari, B., Mansouri, M., Najjari, M., Derakhshanfar, A., Mowlvavi, Gh., 2016. *Macracanthorhynchus hirudinaceus*: the most common helminthic infection of wild boars in southwestern Iran. *The Journal of Parasitic Diseases*, 40(4):1563-1566. doi: 10.1007/s12639-015-0728-3
- Savioli L., Albonico M., 2004. Soil-transmitted helminthiasis. *Nat Rev Microbiol*, 2(8):618–619
- Scampoli, E., 2007. Tra Palazzo Vecchio e Arno: un muro e la formazione della città comunale, in Francovich, R., Cantini F., Cianferoni C., Scampoli E. (a cura di), Firenze prima degli Uffizi. Lo scavo di via de' Castellani: contributi per un'archeologia urbana fra tardo antico ed età moderna, Florence, pp. 61-129
- Scasciamacchia S., Serrecchia, L., Giangrossi, L., Garofolo, G., Balestrucci, A.S.G., 2012. Plague epidemic in the Kingdom of Naples, 1656-1658. *Emerging Infectious Diseases*, 18(1):186–187. doi: 10.3201/eid1801.110597
- Scheidel, W., 2009. Disease and Death in the Ancient City of Rome. *Princeton/Stanford Papers in Classics*. doi: 10.2139/ssrn.1347510
- Schmidt, G.D., Duszynski, D.W., Martin, P.S., 1992. Parasites of the extinct Shasta ground sloth, *Nothrotheriops shastensis*, in Rampart Cave, Arizona. *Journal of Parasitology*, 78:811-816
- Schrader, C., Schielke, A., Ellerbroek, L., Johne, R., 2012. PCR inhibitors – occurrence, properties and removal. *Journal of Applied Microbiology*, 113: 1014-1026. doi: 10.1111/j.1365-2672.2012.05384.x
- Schuenemann, V. J., Singh, P., Mendum, T. A., Krause-Kyora, B., Jager, G., Bos, K. I., ... Krause, J., 2013. Genome-Wide Comparison of Medieval and Modern *Mycobacterium leprae*. *Science*, 341(6142), 179–183. doi:10.1126/science.1238286
- Scobie, A., 1986. Slums, Sanitation, and Mortality in the Roman World. *Klio*, 68(2):399-433
- Searcey, N., Reinhard, K.J., Egarter-Vigl, E., Maixner, F., Piombino-Mascalì, D., Zink, AR., van der Sanden, W., Gardner, S.L., Bianucci, R., 2013. Parasitism of the Zweeloo Woman: Dicrocoeliasis evidenced in a Roman period bog mummy.

- Shapiro, B., Rambaut, A., Gilbert, M.T., 2006. No proof that typhoid caused the Plague of Athens (a reply to Papagrigorakis *et al.*). *International Journal of Infectious Diseases*, 10(4):334-5. doi: 10.1016/j.ijid.2006.02.006
- Shin, D. H., Oh, C. S., Lee, H. J., Chai, J. Y., Lee, S. J., Hong, D.-W., ... Seo, M. (2013). *Ancient DNA analysis on Clonorchis sinensis eggs remained in samples from medieval Korean mummy. Journal of Archaeological Science*, 40(1), 211–216. doi:10.1016/j.jas.2012.08.009
- Sianto, L., Chaves, S.A. de M., Antunes-Ferreira, N., Silva, A.R.M., 2017. Toxocara eggs in an 18th century Franciscan from Portugal. The challenge of differentiating between parasitism and chance in Paleoparasitology. *International Journal of Paleopathology*, 18, 47-51. doi: 10.1016/j.ijpp.2017.05.004
- Sianto, L., de Miranda Chaves, S.A., Teixeira-Santos, I., Pereira, P.A., Godinho, R.M., Gonçalves, D., Santos, A.L., 2016. Evidence of contact between New and Old World: paleoparasitological and food remains study in the Tagus river population of Sarilhos Grandes (Montijo, Portugal). *Archaeological and Anthropological Sciences*. doi: 10.1007/s12520-016-0337-9
- Sianto, L., Santos, A.L., Pérez, J.A., 2015. Paleoparasitological analysis of Roman sewers from Augusta Emerita (Mérida, Spain). Conference: II Bioanthropological Meeting: Life, death and in between, University of Coimbra
- Sianto, L., Veira de Souza, M., Chame, M., Ferreira, L., Guidon, N., Pessis, A.M., Araujo, A.G., 2014. Helminths in feline coprolites up to 9000 years in the Brazilian Northeast. *Parasitology International* 63(6):851-857. doi: 10.1016/j.parint.2014.08.002
- Sianto, L., Nascimento Duarte, A., Chame, M., Magalhaes, J., Vieira de Souza, M., Ferreira, L., Araujo, A.G., 2012. Trichuris sp. From 1,04 +/- 50-year old Cervidae coprolites from the archaeological site Furna do Estrago, Pernambuco, Brazil. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 107:273-274. doi: 10.1590/S0074-02762012000200018
- Sidow, A., Wilson, A. C., & Pääbo, S. (1991). Bacterial DNA in Clarkia fossils. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 333(1268), 429–433. doi:10.1098/rstb.1991.0093
- Slepchenko, S., Reinhard, K., 2018. Paleoparasitology and pathoecology in Russia: investigations and perspectives. *International Journal of Paleopathology* 22:39-44. doi: 10.1016/j.ijpp.2018.03.005

- Slepchenko, S.M., Bugmyrin, S.V., Kozlov, A.I., Vershubskaya, G.G., Shin, D.H., 2019b. Comparison of Helminth Infection among the Native Populations of the Arctic and Subarctic Areas in Western Siberia Throughout History: Parasitological Researches on Contemporary and the Archaeological Resources. *The Korean Journal of Parasitology*, 57(6):607-612. doi: 10.3347/kjp.2019.57.6.607
- Slepchenko, S.M., Kardash, O.V., Slavinsky, V.S., Ivanov, S.N., Sergeyevna R.D., Tsybankov, A.A., Shin, D.H., 2019a. Archaeoparasitological Analysis of Samples from the Cultural Layer of Nadym Gorodok dated Back to the 14thLate 18th Centuries. *The Korean Journal of Parasitology*, 57(6):567-573. doi: 10.3347/kjp.2019.57.6.575
- Smith, M., 1960. Blood Groups of the Ancient Dead. *Science*, 132(3402):699-702
- Søe, M.J., Kapel, C.M., Nejsum, P., 2016. *Ascaris* from Humans and Pigs Appear to Be Reproductively Isolated Species. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(9):e0004855. doi: 10.1371/journal.pntd.0004855
- Søe, M.J., Nejsum, P., Fredensborg, L., Kapel, C.M.O., 2015. DNA Typing of Ancient Parasite Eggs from Environmental Samples Identifies Human and Animal Worm Infections in Viking-Age Settlement. *The Journal of Parasitology*, 101(1):57-63. doi: 10.1645/14-650.1
- Søe, M.J., Nejsum, P., Seersholm, F.V., Fredensborg, L., Habraken, R., Haase, K., Hald, M.M., Simonson, R., Hojlung, F., Blanke, L., Meryke, I., Willerslev, E., Moliin, C., Kapel, O., 2018. Ancient DNA from latrines in Northern Europe and the Middle East (500 BC – 1700 AD) reveals past parasites and diet. *PLoS ONE*, 13(4):e0195481. doi: 10.1371/journal.pone.0195481
- Sonoda, S., Li, H.C., Cartier, L., Nunez, L., Tajima, K., 2000. Ancient HTLV type 1 provirus DNA of Andean mummy. *AIDS Res Hum Retroviruses* 16(16): 1753-6. doi: 10.1089/08892220050193263
- Spigelman, M., Donoghue, H.D., 2001. Brief communication: Unusual pathological condition in the lower extremities of a skeleton from ancient Israel. *American Journal of Physical Anthropology*, 114:92-98
- Spyrou, M.A., Keller, M., Tukhbatova, R.I., Scheib, C.L., Nelson, E.A., Valtuena, A.A., Neumann, G.U., Walker, D., Alterauge, A., Carty, N., Cessford, C., Fetz, H., Gourvenec, M., Hartle, R., Henderson, M., von Heyking, K., Inskip, S.A., Kacki, S., Key, F.M., Knox, E.L., Later, C., Maheshwari-Aplin, P., Peters, J., Robb, M.E., Schreiber, J., Kivisild, T., Castex, D., Lössch, S., Harbeck, M., Herbig, A., Bos, K.I., Krause, J., 2019. Phylogeography of the second plague pandemics revealed through analysis of historical *Yersinia pestis* genomes. *Nature communications*, 10, 4470. doi: 10.1038/s41467-019-12154-0

- Spyrou, M.A., Tukhbatova, R.I., Feldman, M., Drath, J., Kacki, S., Beltran de Heredia, J., Arnold, S., Sitdikov, A.G., Castex, D., Wahl, J., Gazimzyanov, I.R., Nurgaliev, D.K., Herbig, A., Bos, K.I., Krause, J., 2016. Historical Y. pestis Genomes Reveal the European Black Death as the Source of Ancient and Modern Plague Pandemics. *Cell Host & Microbe*, 19(6), 874-881. doi: 10.1016/j.chom.2016.05.012
- Strouhal, E., 1996. Traces of a smallpox epidemic in the family of Ramesses V of the Egyptian 20th dynasty. *Anthropologie*, 34:315–319
- Sudhaus, W., 2008. Evolution of insect parasitism in rhabditid and diplogastrid nematodes. In: Makarov, S.E., Dimitrijevic, R.N. (Eds.), *Advances in Arachnology and Developmental Biology: Papers Dedicated to Professor Bozidar P.M. Curcic*. Institute of Zoology, Belgrade, pp. 117-130
- Sudhaus, W., 2010. Preadaptive plateau in Rhabditida (Nematoda) allow the repeated evolution of zooparasites, with an outlook on evolution of life cycles with Spiroascarida. *Palaeodiversity* 3, 117-130
- Szidat, L., 1944. Über die Erhaltungsfähigkeit von Helmintheneiern in vor-und frühgeschichtlichen Moorleichen. *Zeitschrift für Parasitenkunder* 13:265-274
- Tams, K.W., Søre, M.J., Merkyte, I., Seersholm, F.V., Henriksen, P.S., Klingenberg, S., Willerslev, E., Kjaer, K.H., Hansen, A.J., Moliin Outzen Kapel, C., 2018. Parasitic infections and resource economy of Danish Iron Age settlement through ancient DNA sequencing. *PLoS ONE* 13(6): e0197399. doi: 10.1371/journal.pone.0197399
- Tapp, E., 1979. Disease in the Manchester mummies *In* *The Manchester Museum Mummy Project: Multidisciplinary Research on Ancient Egyptian Mummified Remains*. Manchester University Press, Manchester, 95–102
- Tapp, E., 1984. Disease in the Manchester Mummies – the pathologist's role *In* David, A.R., Tapp, E., (ed.), *Evidence Embalmed: Modern Medicine and the Mummies of Ancient Egypt*, Manchester University Press, Manchester, 78-95
- Tapp, E., 1996. The Leeds Mummy. *Medical Historian: Bulletin of Liverpool Medical History Society* 9, 3–13
- Tapp, E., Wildsmith, K., 1992. The autopsy and endoscopy of the Leeds mummy *In* *The Mummy's Tale: The Scientific and Medical Investigation of Natfsef-Amun, Priest in the Temple at Karnack*, Michael O'Mara, London, 132–153
- Tarr, J. A., 1996. *The Search for the Ultimate Sink: Urban Pollution in Historical Perspective*. The University of Akron Press, Akron, 420 p.

- Taubenberger, J.K., Reid, A.H., Krafft, A.E., Bijwaard, K.E., Fanning, T.G., 1997. Initial genetic characterization of the 1918 'Spanish' influenza virus. *Science* 275(5307):1793-1796. doi: 10.1126/science.275.5307.1793
- Taylor, C., 2015. A Tale of Two Cities: The Efficacy of Ancient and Medieval Sanitation Methods in Mitchell, P.D., (ed) *Sanitation, Latrines and Intestinal Parasites in Past Populations*. Ashgate, Farnham, p. 69-97
- Taylor, E.L., 1955. Parasitic helminthes in Mediaeval remains. *Veterinary Records*, 67:216-218
- Taylor, G.M., Rutland, P., Molleson, T., 1997. A sensitive polymerase chain reaction method for the detection of *Plasmodium* species DNA in ancient human remains. *Ancient Biomolecules* 1: 193-203
- Taylor, M.A., Coop, R.L., Wall, R.L., (ed), 2016. *Veterinary parasitology*. 4th edition, Wiley Blackwell, Oxford
- Thiébault, S., 2010. *Archéologie environnementale de la France*, La Découverte, La Découverte, Paris. 180 p.
- Thompson, G., Patterson, T., 2011. Pulmonary Aspergillosis: Recent Advances. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 32(6):673-681. doi: 10.1055/s-0031-1295715
- Tran, T.-N.-N., Signoli, M., Fozzati, L., Aboudharam, G., Raoult, D., Drancourt, M., 2011. High Throughput, Multiplexed Pathogen Detection Authenticates Plague Waves in Medieval Venice, Italy. *PLoS ONE*, 6(3), e16735. doi: 10.1371/journal.pone.0016735
- Tunno I, Mensing SA (2017) The value of non-pollen palynomorphs in interpreting paleoecological change in the Great Basin (Nevada, USA). *Quaternary Research* 87:529-543. doi: 10.1017/qua.2017.8
- Valentine, J.W., 2004. *On the Origin of Phyla*. The University Press of Chicago, Chicago, p. 367
- Valette, P., 2021. L'évolution du climat terrestre *In* Les climats, une géohistoire. Documentation photographique, CNRS éditions
- van Asperen, E.N., Kirby, J.R., Shaw, H.E., 2019. Relating dung fungal spore influx rates to animal density in a temperate environment: Implications for palaeoecological studies. *The Holocene*. doi: 10.1177/0959683619875804

- van der Valk, T., Pecnerova, P., Diez-del-Molino, D., [...] Shapiro, B., Skoglung, P., Hofreiter, M., Lister, A. M., Götherström, A., Dalen, L., 2021. Million-year-old DNA sheds light on the genomic history of mammoths. *Nature*, 591:265-269. doi: 10.1038/s41586-021-03224-9
- van Dorp, V., Gelabert, P., Rieux, A., de Manuel, M., de-Dios, T., Gopalakrishnan, S., Caroe, C., Sandoval-Velasco, M., Fregel, R., Olalde, I., Escosa, R., Aranda, C., Huijben, S., Mueller, I., Marquès-Bonet, T., Balloux, F., Gilbert, MPT., Lalueza-Fox, C., 2019. *Plasmodium vivax* Malaria Viewed through the Lens of an Eradicated European Strain. *Molecular Biology and Evolution*, 37(3):773-785. doi: 10.1093/molbev/msz264
- van Geel, B., 1978. A palaeoecological study of holocene peat bog sections in Germany and the Netherlands, based on the analysis of pollen, spores and macro- and microscopic remains of fungi, algae, cormophytes and animals. *Review of Palaeobotany and Palynology* 25:1-120. doi: 10.1016/0034-6667(78)90040-4
- van Geel, B., Aptroot., A., 2006. Fossil ascomycetes in Quaternary deposits. *Nova Hedwigia* 82:3-4, 313-329. doi: 10.1127/0029-5035/2006/0082-0313
- Vreeland, R.H., Rozenwieg, W.D., Powers, D.W., 2000. "Isolation of a 250 million-year-old halotolerant bacterium from a primary salt crystal". *Nature*. 407 (6806): 897–900. Bibcode:2000Natur.407..897V. doi:10.1038/35038060
- Willerslev, E., Cappellini, E., Boomsma, W., *et al.*, 2007. Ancient Biomolecules from Deep Ice Cores Reveal a Forested Southern Greenland. *Science*, 317(5834):111-114. doi: 10.1126/science.1141758
- Williams, F.S., Arnold-foster, T., Yeh, H., Ledger, M.L., Baeten, J., Poblome, J., & Mitchell, P.D., 2017. Intestinal parasites from the 2nd – 5th century AD latrine in the Roman Baths at Sagalassos (Turkey). *International Journal of Paleopathology* 19, 37–42. doi: 10.1016/j.ijpp.2017.09.002
- Wilson, H.M., Anderson, L.I., 2004. Morphology and taxonomy of Paleozoic millipedes (Diplopoda: Chilognatha: Archipolypoda) from Scotland. *J. Paleontol.* 78, 169-184
- Witenberg, G., 1961. Human parasites in archaeological findings. *Bull Israel Expl Soc* 25, 86
- Wood, J.R., 2018. DNA barcoding of ancient parasites. *Parasitology*, 646-655. doi: 10.1017/S0031182018000380
- Wood, J.R., Wilmshurst, J.M., Rawlence, N.J., Bonner, K.I., Worthy, T.H., Kinsella, J.M., Cooper, A., 2013. A Megafauna's Microfauna: Gastrointestinal Parasites of New Zealand's Extinct Moa (Aves: Dinornithiformes). *PLoS ONE*, 8(2), 23–24. doi: 10.1371/journal.pone.0057315

- Wood, J.R., Wilmshurst, J.M., Rawlence, N.J., Bonner, K.I., Worthy, T.H., Kinsella, J.M., and Cooper, A., 2013. A megafauna's microfauna: gastrointestinal parasites of New Zealand's extinct moa (Aves: Dinornithiformes). PLoS ONE 8, e57315
- Woodward SR; Weyand NJ; Bunnell M (November 1994). "DNA sequence from Cretaceous period bone fragments". Science. 266 (5188): 1229–32. Bibcode:1994Sci...266.1229W. doi:10.1126/science.7973705
- World Health Organization, 2016a. Global Tuberculosis Report 2016
- World Health Organization, 2016b. World Malaria Report 2016
- World Health Organization, 2016c. Global leprosy update, 2015: time for action, accountability and inclusion in Weekly epidemiological record, 35(91), p. 405-420
- Yeates, G., Boag, B., 2006. Female size shows similar trends in all clades of the phylum Nematoda. Nematology 8, 111e127. doi: doi.org/10.1163/156854106776179881
- Yeh, H.Y., Prag, K., Clamer, C., Humbert, J.B., Mitchell, P.D., 2015. Human intestinal parasites from a Mamluk Period cesspool in the Christian quarter of Jerusalem: Potential indicators of long distance travel in the 15th century AD. International Journal of Paleopathology, 9, 69–75. doi: 10.1016/j.ijpp.2015.02.003
- Zamo, A.-C.N., Belghyti, D., Lyagoubi, M., Elkharrim, K., 2003. Analyse parasitologique des eaux usées brutes d'un effluent urbain de « la Ville Haute » (commune de Mâamora, Kénitra, Maroc). Cah. Détudes Rech. Francoph. Santé 13, 269–272
- Zhan, X., Yeh, H.-Y., Shin, D.H., Chai, J.-Y., Seo, M., Mitchell, P.D., 2019. Differential Change in the Prevalance of the Ascaris, Trichuris and Clonorchis infection Among Past East Asian Populations. The Korean Journal of Parasitology, 57(6):601-605. doi: 10.3347/kjp.2019.57.6.601
- Zhou , C., Li, M., Yuan, K., 2012. Pig *Ascaris*: an important source of human ascariasis in China. Infection, Genetics and Evolution, 12(6):1172-1177. doi: 10.1016/j.meegid.2012.04.016
- Zias, J., Mumcuoglu, K.Y., 1991. Case reports on paleopathology: calcified hydatid cysts. Paleopatholy Newsletter, 73, 7–8
- Zias, J., Mumcuoglu, K.Y., 1991. Pre-pottery Neolithic B head lice found in Nahal Hemar Cave and dated 6,900-6,300 BCE (uncalibrated). Atikot 20, 167–168

- Zias, J.E., Tabor, J.D., Harter-Lailheugue, S., 2006. Toilets at Qumran, the Essenes, and the scrolls: new anthropological data and old theories. *Revue de Qumran* 22, 631-640
- Zink, A., Grabner, W., Reischl, U., Nerlich, A.G., 2003b. Molecular study on human tuberculosis in three geographically distinct and time delineated populations from ancient Egypt. *Epidemiology and Infection*, 130(2):239-249. doi: 10.1017/s0950268802008257
- Zink, A., Haas, C.J., Herberth, K., Nerlich, A.G., 2001. PCR amplification of *Plasmodium* DNA in ancient human remains. *Ancient Biomolecules* 3: 293
- Zink, A., Haas, C.J., Reischl, U., Szeimies, U., Nerlich, A.G., 2001. Molecular analysis of skeletal tuberculosis in an ancient egyptian population. *Journal of Medical Microbiology*, 50(4), 355–366. doi: 10.1099/0022-1317-50-4-355
- Zink, A., Sola, C., Reischl, U., Grabner, W., Rastogi, N., Wolf, H., Nerlich, A.G., 2003a. Characterization of *Mycobacterium tuberculosis* Complex DNAs from Egyptian Mummies by Spoligotyping. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(1):359-367. doi: 10.1128/jcm.41.1.359-367.2003
- Zink, A.R., Spigelman, M., Schraut, B., Greenblatt, C.L., Nerlich, A.G., & Donoghue, H.D., 2006. Leishmaniasis in Ancient Egypt and Upper Nubia. *Emerging Infectious Diseases*, 12(10):1616–1617. doi: 10.3201/eid1210.060169
- Zinsser, H., 2017. *Rats, Lice and History*. Prelude, Richmond, 303 p.
- Zischler H; Höss M; Handt O; von Haeseler A; van der Kuyl AC; Goudsmit J (May 1995). "Detecting dinosaur DNA". *Science*. 268 (5214): 1192–93, author reply 1194. doi:10.1126/science.7605504

Index des figures

Figure 1 Distribution de trois genres d'helminthes autour du bassin méditerranéen dans le registre subfossile holocène. L'Ascaris (ronds jaunes) apparaît comme très ubiquiste, conformément à son écologie actuelle. Le bothriocéphale (carrés verts décentrés), connu pour sa localisation au nord de l'arc alpin de nos jours apparaît largement répandu en Méditerranée depuis le Néolithique, notamment en Crète et sur la côte levantine. Le schistosome (triangles violets) témoigne enfin d'une situation typique d'endémie en zone chaude et humide par sa présence marquée dans la vallée du Nil depuis le 4ème millénaire avant notre ère.36

Figure 2 Distribution chronologique des sites archéologiques ayant livré des helminthes dans la zone méditerranéenne. Les datations absolues, lorsqu'elles sont connues, sont consultables dans l'Annexe 1 de ce manuscrit pour chaque site inclu. Ceux-ci ont été ventilés dans ce graphique en suivant les chronologies régionales indiquées par Broodbank, 2013. Tous les sites s'étendant de l'époque archaïque jusqu'à l'époque tardo-antique ont été inclus sous l'étiquette « Antiquité ». Les dates de 476 et 1492 ont été retenues pour marquer la fin des périodes antique et médiévale.37

Figure 3 Distribution des sites archéologiques holocènes ayant livré des helminthes. A) Néolithique ; B) Âge du Bronze ; C) Âge du Fer ; D) Antiquité ; E) Moyen-Âge ; F) époque Moderne ; G) 19ème siècle.39

Figure 5 Chronologie relative des sites étudiés. Les icones noires indiquent respectivement si des résultats ont été obtenus en microscopie ou en paléogénétique.48

Figure 6 Cartographie régionale des sites positifs. A : les sites du pourtour de la Mer Tyrrhénienne ; B : des Baléares et de la Mer d'Alboran ; C : du pourtour de la Mer Egée. ...49

Figure 8 Schéma de la dégradation et de la minéralisation progressive d'un œuf du genre Ascaris (depuis un œuf frais à gauche, jusqu'à un œuf totalement minéralisé à droite). La coque externe tend à disparaître complètement de même que le contenu cellulaire. Le volume interne peut parfois être observé partiellement ou totalement comblé d'une néo-formation minérale. Dans le cas le plus extrême, tout à droite du schéma, de tels restes, s'ils ne sont pas observés avec des spécimens mieux préservés, ne peuvent que difficilement être interprétés comme des œufs d'Ascaris en l'absence de critères morphologiques d'identification suffisants.66

Figure 9 Les différentes étapes du protocole RHM pour la concentration et l'extraction d'oeufs d'helminthes gastro-intestinaux, depuis des échantillons de sédiment bruts jusqu'à l'obtention de fractions à la granulométrie contrôlée. 71

Figure 10 Dégradation progressive d'une molécule d'ADN après la mort cellulaire. La flèche du temps s'écoule ici de haut en bas. Les altérations touchant le squelette de la molécule se multiplient, ainsi que les pertes ou altérations de bases, et aboutissent à une fragmentation de plus en plus importante de la molécule initiale..... 76

Figure 11 Schéma d'un cycle d'amplification d'ADN par PCR. À la ligne 1, une molécule d'ADN double-brin présente dans l'échantillon analysé est par la suite séparée en deux molécules simples-brins lors de la phase de dénaturation (ligne 2). Lors de la phase d'hybridation (ligne 3), les primers (en rouge), s'apparient aux séquences correspondantes préalablement rendues disponibles par la dénaturation. Les polymérases (en vert) peuvent alors, pendant la phase d'extension (ligne 4), néo-synthétiser des molécules double-brins et reconstituer deux molécules semblables à celle se trouvant à la ligne 1. La répétition successive de ces étapes produit un doublement de la quantité de molécules présentes dans l'échantillon à la fin de chaque cycle..... 86

Figure 12 Après sélection des échantillons en fonction de la diversité et de la quantité d'oeufs préalablement observés sous microscope, l'ADN total est extrait à l'aide du kit DNeasy PowerMax Soil (Qiagen) et les produits d'extraction obtenus amplifiés par PCR simplex ciblant les taxons recherchés. Les échantillons positifs sur gel d'électrophorèse sont purifiés et clonés puis séquencés (étape externalisée) et les séquences obtenues traitées informatiquement..... 95

Figure 13 Latrines k de la Maison des Masques (maison B), vues depuis l'Est à gauche, et depuis l'Ouest à droite. De forme caractéristique « en L », les latrines se déversent dans l'égoût de la rue en passant sous le mur extérieur. 136

Figure 14 Localisation des structures échantillonnées à Délos. Carte centrée sur le sanctuaire d'Apollon. Les secteurs excentrés du quartier du Stade au Nord-Est, et de la maison de Fourni au Sud-Ouest, ne sont pas montrés. Les structures ont été géolocalisées et replacées sur le WEB SIG de Délos (<https://sig-delos.efa.gr/index.php?SIG=Delos>). 138

Figure 15 Distribution des latrines positives et négatives sur l'île de Délos. Les prélèvements ont été concentrés dans les zones urbaines actuellement fouillées de la ville. Le quartier du stade, excentré, demeure une zone urbanisée, contrairement aux prélèvements opérés dans la maison de Fourni dans la zone agraire au sud, représentant une véritable exception dans l'assemblage. Ska: quartier de Skardana ; San : abords du sanctuaire d'Apollon ; Thé : quartier du Théâtre et terrasse des dieux étrangers ; Fou : maison de Fourni ; Sta : quartier du stade. Les structures ont été géolocalisées et replacées sur le fond de carte ESRI Satellite (ArcGIS/World Imagery) avec QGIS 3.8 140

Figure 16 Distribution des helminthes détectés à Délos..... 141

Figure 17 Œufs observés sous microscope optique dans les échantillons déliens. La première et la deuxième ligne ne sont pas à l'échelle. 1 : deux œufs décortiqués de type Ascaridé, certainement *A. lumbricoides* (62,2 x 45,7 et 60,5 x 47,4 µm, x400) ; 2 : œuf de *Trichuris* sp. à la forme caractéristique dite en « citron », certainement *T. trichiura* (54,7 x 27,2 µm, x400) ; 3 : œuf de type Strongyle contenant un juvénile, possible *S. stercoralis* (57,9 x 32,8 µm, x400) ; 4 : œuf de *Fasciola* sp., certainement *F. hepatica* à l'aspect typiquement tanné et dont l'opercule est manquant (113 x 77 µm, x600). 5 : œuf d'*Ascaris* sp. montrant sur la surface droite la préservation de sa coque utérine, contrairement aux spécimens de type Ascaridé montrés au dessus. Le contenu cellulaire semble montrer un juvénile formé. 6-7 : œuf de *Trichuris* sp. en coupe et en surface, montrant un volume interne vide, contrairement au spécimen montré au dessus dont l'endocaste est partiellement minéralisé. Les bouchons polaires muqueux semblent particulièrement bien préservés. La surface pourrait évoquer la présence d'une ornementation assimilable à celle observée chez le genre *Capillaria*, mais la conservation rend cette interprétation douteuse. 8 : œuf de type Strongyle d'une taille assimilable à celle de *Strongyloides stercoralis*. Comme c'est souvent le cas avec les Strongyles, le juvénile semble particulièrement bien préservé, bien qu'ici les parois de l'œuf aient été écrasées contre le ver qu'il contient (par comparaison avec le spécimen montré au dessus)..... 142

Figure 19 Individus inhumés dans l'une des fosses (T8) des sépultures de catastrophe découvertes sous la Galerie des Offices à Florence, Italie. La flèche pointe l'individu C (IND C), dont le membre inférieur gauche a été recoupé par le creusement d'un puits d'époque médiévale. L'échantillon de sédiment prélevé au niveau des lombaires a notamment livré la séquence de *D. dendriticum*..... 160

Figure 20 Localisation des différentes sépultures étudiées dans le cadre de ce chapitre. La fosse T8 et la fosse T9 ont été recoupées par des creusements d'époque médiévale. 162

Figure 21 Résumé du design expérimental pour l'extraction d'ADNa. 1) Un échantillon initial fait l'objet de deux sous-échantillonnages de 5 gr chacun. 2) Chaque sous-échantillon fait l'objet d'une extraction totale d'ADN environnemental. 3) Chaque taxon recherché fait l'objet de 3 PCRs par extraction. 4) Les produits PCR positifs sont clonés dans un plasmide bactérien. 5) Les clones obtenus sont purifiés et séquencés. 165

Figure 22 Relations phylogénétiques des séquences isolées (en gras) en regards des séquences anciennes préalablement publiées (points) et des séquences modernes. Les arbres ont été générés par Maximum de Vraisemblance avec 1000 bootstraps après alignement dans le logiciel MEGA X. Toutes les valeurs de bootstrap sont indiquées. A) Comme attendu, la séquence d'*Ascaris* ne permet pas de discriminer *A. lumbricoides* et *A. suum* (numéro d'accès GenBank HQ704900.1 et HQ704901.1 respectivement) et montre 100% d'homologie avec chaque taxon et dès lors les faibles valeurs de bootstraps pour les bifurcations proposées. *B. schroederi* a été utilisé pour enraciner l'arbre. B) Le fragment obtenu pour *Trichuris* tombe clairement dans la variabilité de *T. trichiura*, infestant les primates dont les

humains. Les séquences anciennes Trich 3-4 ont été extraites de Côté et al., 2016. *T. skrjabini* a été utilisé pour enraciner l'arbre. C) Le fragment obtenu pour *Dricocoelium* groupe avec *D. dendriticum* est séparé de *D. chinensis*. *B. ventricosum* a été utilisé pour enraciner l'arbre.
 166

Figure 24 Situation actuelle de la tourbière d'Asi Gonia, au centre du paysage, au-delà de la route. La forêt de chênes verts de l'époque romaine a laissé place de nos jours à la steppe de phrygane typique du pourtour méditerranéen. Une modeste zone boisée subsiste autour de la zone humide (photo : Isabelle Jouffroy-Bapicot). 177

Figure 25 Diversité des restes parasitaires observés dans la tourbière d'Asi Gonia : 1-2 Trichocephalida inconnu ; 3-4 *Capillaria* sp. de type strié ; 5-6 *Capillaria* sp de type ponctué ; 7-10 *Trichuris* sp., montrant une importante variation de tailles ; 11-12 *Ascaris* sp. ; 13-14 oeufs de type Strongyle ; 15-16 *Paramphistomum* sp. ; 17-18 *Fasciola* sp. ; 19-20 *Macracanthorhynchus* sp.. Échelle = 50 µm (Roche et al., 2020). 178

Figure 26 Comparaison des conformations respectives des œufs de A. *Trichuris* sp., B. *Capillaria* sp., et C. les Trichocéphalidés inconnus observés à Asi Gonia. La rangée du haut présente l'ornementation, et la rangée du bas présente la forme en coupe des œufs. Ap = ouverture (Aperture) ; S = Coque (Shell) ; PP = Bouchon polaire (Polar Plug) ; IS = volume interne (Inner space). Chez les spécimens frais, le volume interne contient l'embryon, mais il est la plupart du temps vide en contexte paléoparasitologique, ou rempli de matériaux exogènes. La conformation du Trichocéphalidé inconnu recoupe à la fois celle des œufs du genre *Trichuris*, et celle des œufs de genre *Capillaria*. 180

Figure 27 Oeuf de Trichocéphalidé fortement taphonomisé, observé dans la tourbière d'Asi Gonia. L'altération de la surface ne permet pas d'en déterminer plus précisément le genre. 182

Figure 29 Synthèse des résultats paléoparasitologiques confrontés aux influx de spores de champignons et aux zones polliniques préalablement déterminées. La ligne du haut correspond à la diversité et au nombre d'oeufs observés par échantillon (cercles bruns) et aux assemblages parasitaires (PA1-4) déterminés visuellement (barres brunes horizontales) ; suivi des influx totaux de spores de champignons (barres bleues verticales) et des zones fongiques déterminées statistiquement ; des zones polliniques (barres horizontales vertes et orange), d'après Jouffroy-Bapicot et al., 2016, et des périodes historiques de la Crète comprises par la séquence étudiée (barres horizontales grises). Les hôtes animaux grisés représentent des identifications incertaines. Les barres rouges indiquent les échantillons négatifs après examen paléoparasitologique (Roche et al., 2020). 189

Figure 30 A : Plan général diachronique de la villa (conception G. Brkojewitsch et S. Sedlbauer) ; B : relevés en coupe de la cuve Cu314 dans l'espace XII (DAO : S. Sedlbauer) ; C-D : La cuve Cu314 depuis le sud-est et l'ouest (photos S. Sedlbauer) ; E : œuf de type Ascaridé observé dans le comblement de la cuve Cu314 ; F : œuf de type Strongyle observé dans la cuve Cu314. 193

Figure 31 Panorama du site de La Biagiola (photo : Luca M. Neijrotti)..... 194

Figure 32 La Biagiola, localisation des tombes échantillonnées lors de la campagne 2017, Bleu : T17_02, vert : T17_01. Plan par Riccardo Rossi, modifié par KR. 195

Figure 33 A Individu T17_02 montrant les zones de prélèvement lors de la fouille. En vert figurent les échantillons collectés au contact des os de la ceinture pelvienne et entre les fémurs proximaux. En rouge figure un échantillon de contrôle prélevé au niveau de la tête. Echelle : 20 cm. B L'un des sacrum ayant fait l'objet d'un échantillonnage de sédiment résiduel après sa déposition et son nettoyage par l'équipe de fouille. Bien que cela ne soit pas toujours évident, il est possible de collecter du sédiment dans les foramens sacrés et le canal sacral en quantité suffisante même après lavage. C : œufs observés à la Biagiola, en haut à gauche, *Ascaris* sp., certainement *Ascaris lumbricoides*, dont la coque utérine est complètement préservée, ainsi que, semble-t-il, le juvénile présent à l'intérieur de l'œuf, 63 x 54 µm, x400, échantillon LB1708 ; en haut à droite, un œuf de type Ascaridé, complètement décortiqué et au volume interne vide, 58 x 48 µm, x400, échantillon LB1707 ; en bas œuf de type Strongyle à la coque externe parfaitement préservée et au juvénile clairement visible, 78 x 32, x400, échantillon LB1702..... 196

Figure 34 Plan diachronique de Kardamaina. Les zones jaunes, initialement repérées par les archéologues, n'ont pas systématiquement donné lieu à des prélèvements après vérification. En revanche, notre présence sur le terrain a permis d'identifier d'autres zones de prélèvement. En vert, les échantillons positifs, en rouge, les échantillons négatifs. 198

Figure 35 A : Echantillonnage vertical dans la conduite de la zone K28 2001/2011. L'ancienne coupe stratigraphique a été rafraîchie lors de notre passage sur le terrain et quatre échantillons ont été collectés. Trois des ces échantillons ont été régulièrement répartis dans le sédiment uniforme de la conduite (rouge) et un quatrième a été collecté au niveau de la fine couche de concrétion sur la dalle couvrant le fond de la conduite (bleu). B : œufs de type Strongyle montrant des morphologies différentes et, comme souvent, des vers particulièrement bien préservés. Les différents spécimens varient de 70-102 µm x 28,5-50 µm, x400. C : assemblage d'œufs de type Ascaridé, ~ 60 x 40 µm, x400. 199

Figure 36 A-B-C : égoûts échantillonnés à Pollentia dans les coupes stratigraphiques rafraîchie (A-B) ou nouvellement faites (C), respectivement dans la zone résidentielle probablement d'époque augustéenne, sur le Marcellum d'époque impériale, et dans la zone des fortifications, d'époque impériale. D-E : bien que systématiquement décortiqués, les œufs d'Ascaridés peuvent, comme les œufs de Strongyles observés sur d'autres sites (eg. Kardamaina) contenir des juvéniles relativement bien préservés. F-G : en dépit du mauvais état de conservation, certains échantillons, comme ici P1706 de l'US9492 correspondant à un égout romain dans la zone des fortifications, peut présenter un grand nombre d'œufs visibles simultanément (plus de 500 comptés dans l'ensemble de l'échantillon), voire plusieurs taxons (G : Ascaridé à gauche, et *Trichuris* sp. à droite). 201

Figure 37 A : plan de Baelo Claudia à l'époque romaine (M. Fincker et V. Picard, IRAA). Les trois zones principales de prélèvement (1-3) indiquent respectivement l'aqueduc de Punta Paloma, le centre urbain autour de la Grande domus (indiquée en orange), et la nécropole sur le littoral. B : L'aqueduc de Punta Paloma arrivant dans Baelo Claudia par l'Est. C-D : canalisation romaine en amont de l'édifice monumentale, anciennement fouillée mais dont il a été possible de rafraîchir la coupe stratigraphique sous le dallage de couverture encore en place. E : sépulture T32, seul enfant échantillonné, d'époque paléochrétienne. F : Œufs de type Ascaridé observés à Baelo Claudia. Le degré de dégradation et de minéralisation est variable, mais toujours important (~60 x 40 µm, x400).....203

Index des tableaux

Tableau 1 Récapitulatifs des pathogènes, parasites et vecteurs détectés au cours de cette revue. Les tableaux détaillés sont consultables en annexes.32

Tableau 2 Récapitulatif des sites étudiés au cours de ce travail.52

Tableau 3 Détection des trois classes d'helminthes observées au cours de ce travail par la microscopie (notée M) et la paléogénétique (notée ADN_a) sur les dix sites archéologiques du corpus ayant livré des résultats. Les sites marqués d'un astérisque font l'objet d'un chapitre qui leur est consacré dans la partie IV du manuscrit. 106

Tableau 4 Détection des nématodes observés au cours de ce travail par la microscopie (notée M) et la paléogénétique (notée ADN_a) sur les dix sites archéologiques du corpus ayant livré des résultats. Les sites marqués d'un astérisque font l'objet d'un chapitre qui leur est consacré dans la partie IV du manuscrit. 107

Tableau 5 Détection Trématodes observés au cours de ce travail par la microscopie (notée M) et la paléogénétique (notée ADN_a) sur les dix sites archéologiques du corpus ayant livré des résultats. Les sites marqués d'un astérisque font l'objet d'un chapitre qui leur est consacré dans la partie IV du manuscrit. 123

Tableau 6 Détection des Acanthocéphales observés au cours de ce travail par la microscopie (notée M) et la paléogénétique (notée ADN_a) sur les dix sites archéologiques du corpus ayant livré des résultats. Les sites marqués d'un astérisque font l'objet d'un chapitre qui leur est consacré dans la partie IV du manuscrit. 130

Tableau 7 Résultats comparatifs de la microscopie et de l'ADN ancien dans les structures ayant fait l'objet des deux types d'analyses. L'ADN confirme la présence d'*Ascaris* sp. là où des œufs de type Ascarididae ont de surcroît systématiquement été observés. La présence de *Trichuris trichiura* est également précisée dans la structure [L22] où des œufs du genre *Trichuris* sp., ou à tout le moins de type Trichocephalida, avaient été observés, ainsi que dans la structure [L57] où aucun œuf de ce type n'avait été détecté. L'ADN révèle également la présence d'*E. vermicularis* dans la structure [L22] où aucun œuf de ce type n'avait été observé. En contrepartie, la microscopie a révélé la présence d'œufs de types Strongyle qui n'ont pas fait l'objet de ciblage en biologie moléculaire, ici dans la structure [L57], mais

également d'autres structures déliennes qui n'ont à ce jour pas fait l'objet de recherche d'ADN ancien. Le numéro des structures renvoie au catalogue des latrines de Délos établi par Bouet *et al.*, 2021. La correspondance avec la carte archéologique de Délos peut être retrouvée en Annexes 2 du présent manuscrit. 144

Tableau 8 Résultats pour 150 réactions PCR. Chaque paire d'amorces est testée 3 fois par produit d'extraction. Cela a pour but de minimiser les erreurs de type II dues à la dégradation de l'ADN ancien, sa rareté dans la matrice sédimentaire, et à la présence d'inhibiteurs de PCR. Les résultats des PCR sont indiqués en vis-à-vis des résultats sous microscope (œufs de type Ascaridé). Les perturbations indiquent respectivement si la fosse ou l'individu a été recoupé par un puits médiéval. 167

Tableau 9 Registre archéozoologique en Crète, d'après Vigne, 1999. 185

Index des abréviations

A (base) : adénine
ADN/ADNa : acide désoxyribonucléique / acide désoxyribonucléique ancien
AEC : avant l'ère chrétienne
EC : ère chrétienne
C (base) : cytosine
Cox : cytochrome oxidase
Cytb : cytochrome B
EDTA : ethylenediaminetetracetic acid
EC : ère chrétienne
ELISA (test) : enzyme-linked immunosorbent assay
G (base) : guanine
HCl : acide chlorhydrique
HF : acide fluorhydrique
IG : inscriptions graecae
ITS : internal transcribed spacer
NaOH : soude
NCBI : national center for biotechnology information
NGS : next generation sequencing
Pb : paires de bases
PCR : polymerase chain reaction
RHM (protocol) : réhydratation, homogénéisation, microtamisage
SDS : sodium dodecyl sulfate
T (base) : thymine
TSP : trisodium phosphate

Communications scientifiques

Publications à comité de lecture

Premier auteur :

-Roche, K., Capelli, N.; Pacciani, E.; Lelli, P.; Pallecchi, P.; Bianucci, R.; Le Bailly, M. Gastrointestinal Parasite Burden in 4th-5th c. CE Florence Highlighted by Microscopy and Paleogenetics. *Infection, Genetics and Evolution* **2021**, *90*, 104713, doi:10.1016/j.meegid.2021.104713

-Roche, K., Jouffroy-Bapicot, I.; Vannière, B.; Le Bailly, M. Ancient Parasites from a Peat Bog: New Insights into Animal Presence and Husbandry in Crete over the Past 2000 Years. *The Holocene* **2020**, *30*, 1243–1253, doi:10.1177/0959683620919984

-Roche, K., Pacciani, E.; Bianucci, R.; Le Bailly, M. Assessing the Parasitic Burden in a Late Antique Florentine Emergency Burial Site. *Korean J Parasitol* **2019**, *57*, 587–593, doi:10.3347/kjp.2019.57.6.587

-Roche, K., Le Bailly, M. Infectious pathogens and ectoparasites in the Mediterranean basin during the Holocene: a review. (  soumettre dans *Quaternary Reviews*)

Co-auteur :

-Murchie, T.J., Kuch, M., Duggan, A., Ledger, M., **Roche, K.**, Klunk, J., Karpinski, E., Sadoway, T., Zazula, G., Froese, D., Poinar, H. Optimizing extraction and targeted capture of ancient environmental DNA for reconstructing past environments using PalaeoChip Arctic-1.0 bait-set. *Quat. Res.* **2020**, 1–24. doi:10.1017/qua.2020.59

-Le Bailly, M., Maicher, C., **Roche, K.**, Dufour, B. Accessing ancient population lifeway by the study of their gastrointestinal parasites: paleoparasitology. *Appl. Sci.* **2021**, *11*(11) 4868. doi: 10.3390/app11114868

Chapitre d’ouvrage

-Roche, K., Capelli, N., Le Bailly, M. Etude paléoparasitologique des latrines de D elos : approche microscopique et moléculaire *In* Bouet, A., (*Dir.*), *Les latrines de D elos*, Ausonius (  paraître).

Colloques

-Roche, K., Capelli, N., Le Bailly, M., « A combined approach to study parasites in the past: microscopy and paleogenetics ». EMOP, **Octobre 2021** (en ligne).

-Roche, K., « Approche combinée en paléoparasitologie : microscopie et recherche ciblée d'ADN ancien ». 41^e Rencontre Internationale d'Histoire et d'Archéologie d'Antibes, **Octobre 2021**, Nice, France, communication orale

-Roche, K., Jouffroy-Bapicot, I., Vannière, B., Le Bailly, M., « Apport de la paléoparasitologie à l'étude multi-indicateur d'un carottage en tourbière : nouvelles données sur la présence animale et l'élevage dans les montagnes crétoises sur les deux derniers millénaires ». Groupement des Paléopathologistes de Langue Française, **Mars 2021** (en ligne), communication orale

-Roche, K., Capelli, N., Pacciani, E., Bianucci, R., Le Bailly, M., « Microscopie et paléogénétique, l'approche intégrée en paléoparasitologie : le cas des sépultures de catastrophe d'Uffizi, Italie, IV^e-V^e siècle CE ». Groupement des Paléopathologistes de Langue Française, **Mars 2021** (en ligne), communication orale

-Roche, K., Jouffroy-Bapicot, I., Vannière, B., Dutour, O., Le Bailly, M., « Ancient parasites as biomarkers and land-use changes as recorded in natural archives: application to the analysis of the Asi Gonia peat bog in the White Mountains, Crete, Greece », The Mediterranean Palynological Societies Symposium, **Juillet 2019**, Bordeaux, France, communication orale

-Roche, K., Murchie, T., Le Bailly, M., Poinar, H., Dutour, O., « Systematic approaches and completeness in paleoparasitology, and integration of molecular paleoparasitology », 22^e colloque du Groupe des Méthodes Pluridisciplinaires Contribuant à l'Archéologie, **Mai 2019**, Montréal, Canada, communication orale

-Roche, K., Jouffroy-Bapicot, I., Vannière, B., Le Bailly, M., Dutour, O., Bouet, A., « Pastoralism and evolution of biodiversity in the Cretan Mountains: animal parasites as paleoecological biomarkers in multi-proxy analyses », 39^e Rencontre Internationale d'Histoire et d'Archéologie d'Antibes, **Octobre 2018**, Antibes, France, communication orale

-Roche, K., Le Bailly, M., Jouffroy-Bapicot, I., Dutour, O., Bouet, A., « Ancient parasites in the Mediterranean basin: Review and new data » 22nd Meeting of the European Paleopathology Association, **Août 2018**, Zagreb, Croatia, communication orale

-Roche, K., Le Bailly, M., Jouffroy-Bapicot, I., Dutour, O., Bouet, A., « Parasitisme en Méditerranée ancienne : revue et données nouvelles », Groupement des Paléopathologistes de Langue Française, **Mai 2018**, Rouen, France, communication orale

-Roche, K., Dutour, O., Bouet, A., Le Bailly, M., « Premier diagnostic paléoparasitologique positif en Grèce ancienne : possibles helminthiases humaines dans les latrines de Délos, II^e

siècle av. J.C.-I^{er} siècle av. J.-C. ». Groupement des Paléopathologistes de Langue française,
Mars 2014, Toulon, France, communication affichée

Annexes

Annexe 1: Vecteurs, champignons, bactéries et particules virales dans le bassin méditerranéen holocène

Arthropodes

Il a déjà été noté par le passé que la plupart des données issues de la paléoparasitologie concernent des endoparasites stricts tels que les vers et les protozoaires. Cependant, les arthropodes ectoparasites tels que les puces, les tiques et les poux peuvent également être conservés et observés dans des échantillons anciens grâce à leur cuticule sclérotique (Huchet *et al.*, 2013). De plus, les ectoparasites peuvent être vecteurs d'endoparasites, de microbes ou de virus, comme la puce vectrice de l'agent de la peste, la bactérie *Yersinia pestis* (Raoult *et al.*, 2013). Ces phénomènes impliquent donc une grande diversité d'organismes (et de particules virales), interagissant au-delà de toutes les frontières géographiques, temporelles et disciplinaires. Les différentes spécialités concernées, dont la paléoparasitologie, la paléomicrobiologie et l'archéontomologie, ont donc tout à gagner à étudier ensemble ces synergies (Dutour, 2013).

Concernant le bassin méditerranéen ancien, il est possible de citer la détection de poux humains, *Pediculus humanus*, en Italie durant l'Antiquité (Capasso et Di Tota, 1998), ainsi qu'en Israël et en Égypte (Fletcher, 2002 ; Friedman *et al.*, 1999 ; Mumcuoglu et Zias, 1988 ; Mumcuoglu, 2003, 2008 ; Palma, 1991 ; Zias et Mumcuoglu, 1991). La puce humaine, *Pulex irritans*, a également été détectée dans le sud de la France au cours de la période néolithique (Remicourt *et al.*, 2014). Panagiokopulu et Buckland ont récemment passé en revue (2017) les occurrences de *P. irritans* dans les archives subfossiles d'Europe. Des tiques de l'espèce *Rhipicephalus sanguinus* ont également été détectées en Égypte ancienne (Huchet *et al.*, 2013 ; Otranto *et al.*, 2014). Huchet *et al.* (2013) ont également présenté un cas très sévère de polyparasitisme tique/hippoboscides chez un chien momifié en Égypte. En 2013, Forbes *et al.* ont également présenté une synthèse de tous les ectoparasites dans les archives subfossiles.

Champignons

Les infections fongiques sont rarement observées en paléopathologie. Cependant, les momies nord-américaines ont donné lieu à plusieurs observations paléomycologiques très prometteuses qu'il semble utile de mentionner ici. Dans le cas de momies andines datées du 15^{ème} au 16^{ème} siècle de notre ère, *Coccidioides* sp. et *Microsporium gypseum* ont été observés en microscopie optique après réhydratation des tissus momifiés (Silva-Pinto *et al.*, 2013). Des champignons phytopathogènes ont également été détectés lors de l'étude du contenu abdominal d'une momie péruvienne datée entre 600 et 1000 EC (Vreeland et Korf, 1978). De telles observations pourraient fournir des informations importantes sur les maladies des plantes dans le passé et sur le poids des phytopathogènes sur les premières sociétés horticoles et la migration de l'agriculture depuis ses différents points d'émergence.

De même, bien qu'il ne s'agisse pas d'agents pathogènes des plantes, le tissu d'une des momies de la tombe de Parennefer en Égypte a été réhydraté. Des lésions tissulaires ont été observées dans ses poumons, qui étaient criblés de restes d'*Aspergillus* sp. qui provoque l'aspergillose pulmonaire (Horne et Redfort, 1995). Cette infection fongique est ubiquiste et

présente un large éventail de manifestations pathologiques, allant de formes non invasives à la dissémination avec des taux de mortalité élevés (Thompson et Patterson, 2011).

Bactéries

Comme les micro-eucaryotes, les bactéries sont des organismes unicellulaires, mais elles en diffèrent par leur organisation cellulaire. Au lieu d'être séquestrés dans le noyau et d'autres structures membranaires, leur génome et leurs fonctions cellulaires flottent directement dans le cytoplasme de la cellule. Les bactéries constituent, avec les archées, le domaine des organismes procaryotes.

Depuis les années 1990, la paléomicrobiologie a fourni un nombre croissant de détections d'agents pathogènes bactériens dans des contextes anciens, mettant en lumière leur histoire évolutive et leur rayonnement géographique au cours du temps (Drancourt et Raoult, 2008a). Dans le contexte méditerranéen en particulier, il est possible de citer l'agent de la tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*, la peste, *Yersinia pestis*, la syphilis, *Treponema pallidum*, la fièvre typhoïde, *Salmonella enterica serovar typhi*, et la fièvre des tranchées, *Bartonella quintana*. La suite de cette revue explique ces différentes observations.

Mycobacterium tuberculosis

L'agent de la tuberculose (TB) appartient à l'embranchement des actinobactéries. Selon l'OMS, la tuberculose est actuellement l'une des dix principales causes de décès dans le monde, avec 10,4 millions de personnes infectées en 2015 et 1,8 million de décès. La tuberculose affecte principalement les poumons et se transmet d'une personne à l'autre par voie aérienne. Répandue, réémergente et multirésistante, la tuberculose est aujourd'hui un problème majeur de santé publique dans le monde (OMS, 2016a).

La longue relation de coévolution entre *M. tuberculosis* et l'espèce humaine est bien documentée dans les archives ostéologiques. En effet, des signes pathognomoniques de la maladie peuvent être reconnus sur des restes archéologiques (Holloway *et al.*, 2011). Cette spécificité diagnostique a facilité la détection démonstrative de l'agent causal de la maladie au début des années 1990, lorsque les techniques moléculaires ont commencé à être employées dans la recherche d'agents infectieux anciens. De plus, l'enveloppe épaisse et hydrophobe de la bactérie et son génome riche en bases G-C semblent particulièrement propices à sa préservation dans les échantillons anciens (Donoghue, 2008 ; Pálfi *et al.*, 2015). Par conséquent, la détection de *M. tuberculosis*, qu'elle soit indirecte (signes osseux) ou directe (ADNa) n'est pas rare dans les archives subfossiles.

En ce qui concerne les détections directes, nous pouvons citer des cas de *M. tuberculosis* en Égypte au 4^{ème} millénaire AEC, au Levant il y a 8000 ans, ou au Portugal au 19^{ème} siècle EC (Crubézy *et al.*, 1998 ; Donoghue *et al.*, 1998, 2010 ; Hershkovitz *et al.*, 2008 ; Lalremruata *et al.*, 2013 ; Nerlich *et al.*, 1997 ; Redman *et al.*, 2009 ; Zink *et al.*, 2001, 2003a, 2003b). Ces découvertes ont rapidement montré leur intérêt pour une compréhension non spéculative de

l'évolution et de l'écologie passée de la tuberculose et de ses agents (HersHKovitz *et al.*, 2015).

Mycobacterium leprae

M. leprae est l'agent responsable de la lèpre (ou maladie de Hansen), qui affecte principalement les tissus cutanés, les nerfs périphériques, les voies aériennes supérieures et les yeux chez l'humain. Les cas très avancés peuvent toucher le tissu osseux et permettent aux paléopathologistes d'identifier avec certitude la maladie sur des restes de squelettes. Le bacille est transmis par voie aérienne. En 2015, plus de 200 000 cas ont été signalés dans le monde, dont une majorité (60 %) en Inde selon l'OMS (2016c).

La lèpre est un problème bien connu dans l'histoire des maladies et de la médecine, notamment dans le contexte méditerranéen antique à travers l'utilisation du terme grec *lepra* dans le corpus hippocratique pour signifier diverses affections cutanées, mais sans lien avec la nosologie actuelle (Grmek, 1991). Selon Grmek, les médecins grecs ne connaissaient pas vraiment la lèpre pendant la période classique, sauf peut-être à l'occasion de cas très sporadiques de ce qui n'était alors qu'une affliction exotique. En comparaison, les preuves textuelles semblent plus que substantielles d'une véritable lèpre dans l'Inde ancienne dès le 9^{ème} siècle AEC, et en Chine dès le 6^{ème} siècle AEC (Nerlich et Zink, 2008). Les premières descriptions fiables de la lèpre dans le monde gréco-romain peuvent être attribuées à Celse et à Pline l'Ancien au 1^{er} siècle de notre ère, ce qui plaide en faveur d'une propagation de la maladie dans le monde romain occidental à partir des régions orientales (Nerlich et Zink, 2008).

Le registre paléomicrobiologique en Méditerranée semble refléter les sources historiques avec la détection de *M. leprae* au 1^{er} siècle EC en Israël (Matheson *et al.*, 2009). La littérature sur le bacille de Hansen dans les échantillons anciens a récemment été revue par Donoghue *et al.* (2018). Cependant, des conditions lépreuses pathognomoniques ont été reconnues parmi les sépultures celtiques du nord de l'Italie au 3^{ème} siècle AEC, et dans l'oasis de Dakhleh en Égypte aux périodes ptolémaïque et romaine (Mariotti *et al.*, 2005 ; Dzierzykraj-Rogalski, 1980 ; Molto, 2002). Ce décalage chronologique entre les archives paléomicrobiologiques et ostéologiques pourrait être dû à la progression relativement lente de la maladie en Occident jusqu'à son implantation endémique et enfin sa description par les médecins et les naturalistes de l'époque.

Yersinia pestis

Y. pestis est l'agent de la peste et est encore endémique dans certaines régions tropicales, subtropicales et tempérées. Cette zoonose infecte principalement les rongeurs mais peut entrer dans un cycle de transmission interhumaine où les puces jouent le rôle de vecteurs hématophages. En 2015, on ne dénombrait que quelques centaines de cas dans le monde et moins de 100 décès. Cependant, l'émergence de souches résistantes au 19^{ème} siècle, son rôle potentiel dans des actes de guerre ou de terrorisme bactériologique, ainsi que la connaissance des pandémies passées causées par ce germe responsable de millions de morts, ont conduit à un certain regain d'intérêt scientifique à son égard (Drancourt et Raoult, 2008b).

L'identification de *Y. pestis* dans les archives subfossiles est facilitée par la découverte de sépultures de crise, surtout si elles sont associées à des sources textuelles informant d'épidémies locales. Il a été possible d'identifier la bactérie de la peste dans le sud de la France, notamment à Marseille, ainsi qu'en Italie (Bianucci *et al.*, 2008 ; Drancourt *et al.*, 1998 ; Haensch *et al.*, 2010 ; Raoult *et al.*, 2000 ; Scasciamacchia *et al.*, 2012 ; Tran *et al.*, 2011).

Treponema pallidum

T. pallidum est une bactérie Spirochète qui provoque la syphilis vénérienne. La maladie se caractérise par de petites lésions cutanées qui évoluent vers des affections secondaires et tertiaires dramatiques si elles ne sont pas traitées.

La question de l'origine de cette infection sexuellement transmissible (IST) est probablement l'un des débats les plus emblématiques de la paléopathologie. Cette controverse oppose principalement l'hypothèse colombienne à l'hypothèse précolombienne et sort largement du cadre de cette revue (Grauer, 2012). Néanmoins, il convient de noter que cette controverse est motivée par plusieurs points. Premièrement, la grande difficulté à reconnaître des signes ostéologiques fiables et révélateurs de la maladie, tels que les signes pathognomoniques de la tuberculose ou de la lèpre. Ensuite, la difficulté de trouver des biomarqueurs du tréponème à la fois suffisamment anciens pour éclairer son origine géographique et suffisamment spécifiques pour signer sans équivoque la présence de la sous-espèce *T. pallidum pallidum*, responsable de la syphilis sous sa forme connue depuis le 15^{ème} siècle en Europe (Bouwman et Brown, 2005).

En Méditerranée, le tréponème a été détecté en Italie et en Espagne à l'époque moderne (Fornaciari *et al.*, 1989 ; Montiel *et al.*, 2012).

Salmonella enterica

S. enterica est une protéobactérie et l'agent causal de la fièvre typhoïde chez l'humain. Elle est transmise par la voie féco-orale, généralement par la consommation d'eau et d'aliments souillés par des matières fécales. Une étude récente définissant la fièvre typhoïde comme une " vieille peste ", rapporte qu'elle provoque encore 21 millions de cas et 200 000 décès chaque année dans le monde (Franco-Paredes *et al.*, 2016).

Une séquence d'ADNa hautement homologue à celle de *S. enterica serovar typhi* a été détectée dans la pulpe dentaire d'individus de Kerameikos, à Athènes. Ce site a en effet livré une sépulture de masse attribuable à un événement de forte mortalité, c'est-à-dire une sépulture de crise, et a en outre été daté du 5^{ème} AEC, lorsque la ville a souffert de la " peste d'Athènes " rapportée par Thucydide.

Malgré les discussions qui ont émergé suite à cette détection concernant le rôle singulier de *Salmonella* dans l'épidémie, voire l'authenticité des résultats (Shapiro, 2006, Papagrigorakis *et al.*, 2006, Littman, 2009), la confrontation des données génomiques, archéologiques et historiques en fait la seule preuve biologique à ce jour concernant l'identité de cette épidémie

historique, soit exclusivement, soit en relation avec d'autres pathogènes encore inconnus (Papagrigrakis *et al.*, 2008).

Bartonella quintana

Les bactéries du genre *Bartonella* sont transmises par des ectoparasites arthropodes tels que les poux *Pediculus humanus corporis* dans le cas de *B. quintana*. L'espèce humaine est actuellement le seul réservoir connu de cette bactérie. Elle est à l'origine de bactériémies asymptomatiques mais aussi de la fièvre des tranchées qui a été reconnue pendant la première guerre mondiale et dont l'agent a été formellement identifié dans les années 1960.

Cependant, l'infection par *B. quintana* est plus ancienne puisque la bactérie a été détectée dans des échantillons de pulpe dentaire humaine provenant du sud de la France et datant de 2000 ans AEC (Drancourt *et al.*, 2005). La même équipe a également identifié la bactérie dans des échantillons de pulpe datant des 15^{ème} et 16^{ème} siècles à Venise, en Italie (Tran *et al.*, 2011). En 2015, Fournier *et al.* ont passé en revue toutes les occurrences de *Bartonella* en paléomicrobiologie.

Virus

Les particules virales sont, à l'exception des champignons, les parasites les moins étudiés dans les archives subfossiles. Cependant, il est possible de citer des publications qui ont rapporté la détection de virus en dehors du cadre strict de cette revue. En général, ces rapports concernent des échantillons relativement récents (Li *et al.*, 1999 et Sonoda *et al.*, 2000 ; Bedarida *et al.*, 2011 ; Biagini *et al.*, 2012 ; Appelt *et al.*, 2014). Parmi celles-ci, le séquençage de l'ARN du virus de la grippe responsable de l'épidémie de 1918 à partir d'échantillons médicaux d'une de ses victimes est un exemple particulièrement illustratif (Taubenberger *et al.*, 1997).

Dans le contexte méditerranéen, des particules du virus de la variole (VARV) ont été observées en 1990 dans une momie italienne de 400 ans (Fornaciari *et al.*, 1986 ; Marennikova *et al.*, 1990). Le virus n'était alors plus actif. Une étude plus récente portant sur les mêmes échantillons a tenté d'enrichir la séquence d'ADN du VARV précédemment observé au microscope électronique, mais aucun résultat n'a été obtenu (Ross *et al.*, 2018). Cependant, cette tentative de confirmer un diagnostic basé sur des observations microscopiques avec l'ADNa a conduit à la détection du virus de l'hépatite B (VHB) plutôt que du VARV. Cette découverte a été d'un grand intérêt car elle a montré que malgré le schéma de dégradation typique de l'ADN ancien prouvant l'authenticité de l'observation, le génome du VHB présentait très peu de variations structurelles pouvant distinguer une souche ancienne des souches récentes actuellement connues. Ils ont ainsi mis en lumière le schéma évolutif inattendu de ce virus.

De même, le VARV a été soupçonné d'avoir infecté et tué le pharaon Ramsès V au 12^{ème} siècle AEC. Cette hypothèse était basée sur des lésions cutanées observées sur le corps momifié du pharaon (Hopkins, 1980). Des particules virales inactives ont été observées (Lewin, 1984), mais aucun ADN viral n'a été détecté. Bien qu'une seule particule virale ait

été observée au microscope électronique, le diagnostic de variole a été défendu par la suite (Strouhal, 1996).

Tableau 1. Helminthes (classe: Nematoda).			
Espèces / Morphotypes	Origine	Datation	Références
<i>Ascaris</i> sp.	Cyprus, Shillourokambos	8500 AEC	Harter, 2003
	Cyprus, Shillourokambos	7600 - 6500 AEC	Harter, 2003
	Spain, La Draga	5320- 4980 AEC	Côté <i>et al.</i> , 2016 ; Maicher <i>et al.</i> , 2017
	Cyprus, Khirokitia	4640 ± 260 AEC	Harter, 2003
	Sudan, Saï	2700 AEC	Harter, 2003
	Sudan, Kerma	2400 - 1750 AEC	Harter, 2003
	Greece, Ayia Irini	1600 - 1100 AEC	Anastasiou <i>et al.</i> , 2018
	Italy, Sa Osa	Age du bronze tardif	Sabato <i>et al.</i> , 2015
	Egypt, Saqqara	715 - 665 AEC	Harter, 2003
	France, Lattes	4 ^e s. AEC	Jouy-Avantin and Moné, 2003
	Sudan, Saï	8 ^e – 4 ^e s. AEC	Harter, 2003
	Egypt, Akhmim	3 ^e – 1 ^{er} s. AEC	Cockburn <i>et al.</i> , 1975

	Turkey, Sagalassos	2 ^e – 5 ^e s. EC	Williams <i>et al</i> , 2017
	Greece, Delos	2 ^e – 1 ^{er} s. AEC	Lab analyses
	Israel, Qumran	Période hellénistique	Zias <i>et al</i> , 2006
	Israel, Qumran	1 ^{er} s. AEC	Harter, 2003
	Sudan, Saï	3 ^e s. AEC – 4 ^e s. EC	Harter, 2003
	Sudan, Sedeinga	3 ^e s. AEC – 4 ^e s. EC	Harter, 2003
	Cyprus, Paphos	Hellénistique-Romaine	Ledger, 2019
	Spain, Merida	Période romaine	Sianto <i>et al</i> , 2015
	Spain, Barcelona	Période romaine	Lab analyses
	Italy, Vacone	Période romaine	Ledger, 2019
	Italy, Oplontis	79 EC	Ledger, 2019
	France, Villevieille	1 ^{er} s. EC	Dufour, 2015
	Serbia, Viminacium	2 ^e – 3 ^e s. EC	Ledger, 2019
	Italy, Vagnari vicus	2 ^e – 4 ^e s. EC	Ledger, 2019
	Turkey, Ephesus	1 ^{er} s. AEC – 6 ^e s. EC	Ledger <i>et al</i> , 2018
	France, Bordeaux	1 ^{er} s. AEC – 7 ^e s. EC	Dufour, 2015

	France, Castillon du Gard	1 ^{er} s. AEC – 7 ^e s. EC	Dufour, 2015
	France, Mougins	1 ^{er} s. AEC – 7 ^e s. EC	Dufour, 2015
	Greece, Ayia Irini	2 ^e – 3 ^e s. EC	Anastasiou <i>et al</i> , 2018
	Italy, Uffizi	4 ^e – 5 ^e s. EC	Roche <i>et al</i> , 2019
	Israel, Caesaria	3 ^e – 4 ^e s. EC	Harter, 2003
	Israel, Beit Shean	200 - 300 EC	Harter, 2003
	Sudan, Saï	4 ^e – 5 ^e s. EC	Harter, 2003
	Sudan, Saï	4 ^e – 16 ^e s. EC	Harter, 2003
	Sudan, Sedeinga	4 ^e – 16 ^e s. EC	Harter, 2003
	Egypt, Alexandria	5 ^e s. EC	Dufour, 2015
	Turkey, Sardis	6 ^e – 7 ^e s. EC	Ledger, 2019
	Gerasa, Jordan	7 ^e – 8 ^e s. EC	Søe <i>et al</i> , 2018
	France, Southern France	7 ^e – 9 ^e s. EC	Côté <i>et al</i> , 2016
	Italy, Brescia	Moyen Age	Lab analyses
	Italy, Vacone	608 - 770 EC	Ledger, 2019
	Italy, Parma	10 ^e – 11 ^e s. EC	Florenzano <i>et al</i> , 2012
	Cyprus, Saranda Kolones	12 ^e s. EC	Anastasiou and Mitchell, 2013

	Israel, Acre	13 ^e s. EC	Mitchell, 2011
	Portugal, Sarilhos Grandes	14 ^e s. EC	Sianto <i>et al</i> , 2016
	Israel, Jerusalem	15 ^e – 16 ^e s. EC	Yeh <i>et al</i> , 2015
	Spain, Barcelona	Période moderne	Lab analyses
	Israel, Acre	19 ^e s. EC	Eskew <i>et al</i> , 2019
	Italy, Sardinia, Ducal Palace of Sassari	19 ^e s. EC	Chessa <i>et al.</i> , 2020
Ascaridés	Greece, Delos	2 ^e – 1 ^{er} s. AEC	Lab analyses
	Turkey, Labraunda	Période hellénistique	Lab analyses
	France, Mare Stagno	Période romaine	Lab analyses
	Italy, Ostia	Période romaine	Dufour, 2015
	Spain, Baelo Claudia	Période romaine tardive	Lab analyses
	Spain, Pollentia	Période romaine tardive – Haut Moyen Age	Lab analyses
	Greece, Kardamena	Période hellénistique et Haut Moyen Age	Lab analyses
	Italy, Brescia	Moyen Age	Lab analyses
	Italy, Uffizi	4 ^e – 5 ^e s. EC	Roche <i>et al</i> , 2019
	Spain, Cordoba	10 ^e – 11 ^e s. EC	Knorr <i>et al</i> , 2019
	Portugal, Mertola	12 ^e – 13 ^e s. EC	Knorr <i>et al</i> , 2019

<i>Capillaria</i> spp.	Spain, La Draga	5320 - 4980 AEC	Maicher <i>et al</i> , 2017
	France, Lattes	4 ^e s. AEC	Jouy-Avantin and Moné, 2003
	Italy, Ostia	Période romaine	Dufour, 2015
	Italy, Parma	10 ^e – 11 ^e s. EC	Florenzano <i>et al</i> , 2012
<i>Dracunculus medinensis</i>	Egypt, Tomb of Parennefer	15 ^e s. AEC	Horne and Reford, 1995
	Egypt, Hawara, Mummy 17770 (Manchester)	Période ptolémaïque	Isherwood <i>et al</i> , 1979
<i>Enterobius vermicularis</i>	Spain, La Draga	5320 - 4980 AEC	Côté <i>et al</i> , 2016 ; Maicher <i>et al</i> . , 2017
	Sudan, Sai	2700 AEC	Harter, 2003
	Sudan, Sai	8 ^e – 4 ^e s. AEC	Harter, 2003
	Sudan, Sai	3 ^e s. AEC – 4 ^e s. EC	Harter, 2003
	Sudan, Sedeinga	3 ^e s. AEC – 4 ^e s. EC	Harter, 2003
	Egypt, Kellis	1 ^{er} s. AEC – 4 ^e s. EC	Horne, 2002
	Israel, Qumran	Période hellénistique	Zias <i>et al</i> , 2006
	Sudan, Sedeinga	4 ^e – 16 ^e s. EC	Harter, 2003
	Southern France	7 ^e – 9 ^e s. EC	Côté <i>et al</i> , 2016

<i>Filaria</i>	Egypt, Karnak (Natsef Amun Leeds mummy)	12 ^e s. AEC	Tapp and Wildsmith 1992
<i>Metastrongylus</i> sp.	France, Lattes	4 ^e s. AEC	Jouy-Avantin and Moné, 2003
<i>Oxyuris equi</i>	France, Marseille	Période romaine	Harter-Lailheugue, 2006
<i>Strongyloides stercoralis</i>	Egypt, Thebes	7 ^e s. AEC	Tapp, 1979
Ancylostomidés	Sudan, Saï	8 ^e – 4 ^e s. AEC	Harter, 2003
	Sudan, Saï	3 ^e s. AEC – 4 ^e s. EC	Harter, 2003
	Sudan, Saï	4 ^e – 5 ^e s. EC	Harter, 2003
	Egypt, Deir el Medineh	400 - 300 AEC	Harter, 2003
Strongles	Greece, Delos	2 ^e – 1 ^{er} s. AEC	Lab analyses
	Greece, Kardamena	Période hellénistique	Lab analyses
	France, Mare Stagno	Période romaine	Lab analyses
	Italy, Ostia	Période romaine	Dufour, 2015
	Italy, Brescia	Moyen Age	Lab analyses
	Portugal, Sarilhos Grandes	14 ^e s. EC	Sianto <i>et al</i> , 2016
	Portugal, Convent of the Holy Spirit, Lisbon District	Moyen Age – 19 ^e s. EC	Sianto <i>et al</i> , 2015

<i>Syphacia obvelata</i>	Sudan, Sai	8 ^e – 4 ^e s. AEC	Harter, 2003
	Sudan, Sai	3 ^e s. AEC – 4 ^e s. EC	Harter, 2003
<i>Toxocara canis</i>	Israel, Kasy Yehud	9 ^e s. EC	Harter, 2003
<i>Toxocara cati</i>	Cyprus, Shillourokambos	7600 - 6500 AEC	Harter, 2003
	Portugal, Convent of the Holy Spirit, Lisbon District	17 ^e – 18 ^e s. EC	Sianto <i>et al</i> , 2017
<i>Toxocara</i> sp.	France, Bordeaux	1 ^{er} s. AEC – 7 ^e s. EC	Dufour, 2015
<i>Trichuris</i> spp.	Cyprus, Shillourokambos	7600 - 6500 AEC	Harter, 2003
	Turkey, Çatalhöyük	6410 - 6150 AEC	Ledger <i>et al</i> , 2019
	Spain, La Draga	5320 - 4980 AEC	Côté <i>et al</i> . , 2016 ; Maicher <i>et al</i> . , 2017
	Cyprus, Khirokitia	4640 ± 260 AEC	Harter, 2003
	Greece, Kephala	4000 AEC	Anastasiou <i>et al</i> , 2018
	France, La boucle a corconne	Néolithique	Duday, 2005
	Egypt, Hierakonpolis	3900 - 3300 AEC	Nezamabadi, 2014
	Sudan, Kerma	2400 - 1750 AEC	Harter, 2003
	Israel, Megiddo	14 ^e s. AEC	Langgut <i>et al</i> , 2016

	Egypt, Asyut	1540 - 1070 AEC	Harter, 2003
	Italy, Sa Osa	Age du bronze tardif	Sabato <i>et al.</i> , 2015
	Israel, Jerusalem	7 ^e – 6 ^e s. AEC	Cahill <i>et al.</i> , 1991
	Sudan, Saï	8 ^e – 4 ^e s. AEC	Harter, 2003
	France, Lattes	4 ^e s. AEC	Jouy-Avantin and Moné, 2003
	Sudan, Saï	3 ^e s. AEC – 4 ^e s. EC	Harter, 2003
	Egypt, Deir el-Medineh	400 - 300 AEC	Harter, 2003
	Egypt, Saqqara	400 - 300 AEC	Harter, 2003
	Sudan, Sedeinga	3 ^e – 4 ^e s. EC	Harter, 2003
	Turkey, Labraunda	Période hellénistique	Lab analyses
	Italy, Pompeii	Période romaine	Dubbin, 2003
	Italy, Pompeii	Période romaine	Love, 2007
	Italy, Vacone	Période romaine	Ledger, 2019
	Italy, Parma	3 ^e – 2 ^e s. AEC	Bosi <i>et al.</i> , 2011
	Greece, Delos	2 ^e – 1 ^{er} s. AEC	Lab analyses
	Israel, Qumran	Période hellénistique	Zias <i>et al.</i> , 2006
	Turkey, Ephesus	1 ^{er} s. AEC – 6 ^e s. EC	Ledger <i>et al.</i> , 2018

	Italy	Période romaine	Heirbaut <i>et al</i> , 2011
	Spain, Merida	Période romaine	Sianto <i>et al</i> , 2015
	Spain, Pollentia	Période romaine	Lab analyses
	Italy, Oplontis	79 EC	Ledger, 2019
	Israel, Nahal Mishmar Valley	2 ^e s. EC	Witenberg, 1961
	Greece, Ayia Irini	2 ^e – 3 ^e s. EC	Anastasiou <i>et al</i> , 2018
	Serbia, Viminacium	2 ^e – 3 ^e s. EC	Ledger, 2019
	Italy, Gerace	5 ^e s. EC	Rabinow <i>et al.</i> , 2022
	Sudan, Sai	4 ^e – 16 ^e s. EC	Harter, 2003
	Sudan, Sedeinga	4 ^e – 16 ^e s. EC	Harter, 2003
	Southern France	7 ^e – 9 ^e s. EC	Côté <i>et al</i> , 2016
	Cyprus, Saranda Kolones	12 ^e s. EC	Anastasiou and Mitchell, 2013
	Italy, Parma	10 ^e – 11 ^e s. EC	Florenzano <i>et al</i> , 2012
	Israel, Acre	12 ^e – 13 ^e s. EC	Mitchell and Tepper, 2007
	Israel, Jerusalem	15 ^e – 16 ^e s. EC	Yeh <i>et al</i> , 2015
	Israel, Acre	19 ^e s. EC	Eskew <i>et al</i> , 2019
	Italy, Sardinia, Ducal Palace of Sassari	19 ^e s. EC	Chessa <i>et al.</i> , 2020

<i>Trichinella spiralis</i>	Egypt, Deir el-Bahri, Nakht-ROM I mummy (Manchester)	1250 AEC	de Boni, 1977
	Spain, Toledo	19 ^e – 20 ^e s. EC	Bellard and Cortès, 1991
<i>Parascaris univalens</i>	Jordan, Geresa	7 ^e – 8 ^e s. EC	Søe <i>et al.</i> , 2018

Tableau 2. Helminthes (classe : Trematoda).

Espèces	Origine	Datation	Références
<i>Dicrocoelium</i> sp.	Spain, La Draga	5320 - 4980 AEC	Côté <i>et al.</i> , 2016 ; Maicher <i>et al.</i> , 2017
	Sudan, Kerma	2400 - 2050 AEC	Harter, 2003
	Sudan, Kerma	1885 - 1565 AEC	Harter, 2003
	Sudan, Kerma	1750 - 1425 AEC	Harter, 2003
	Israel, Qumran	Période hellénistique	Zias <i>et al.</i> , 2006
	Italy, Ostia	Période romaine	Dufour, 2015
	Italy, Uffizi Gallery	406 EC	Roche <i>et al.</i> , 2021
	Turkey, Sagalassos	2 ^e – 5 ^e s. EC	Williams <i>et al.</i> , 2017

	Southern France	7° – 9° s. EC	Côté <i>et al.</i> , 2016
	Italy, Parma	10° – 11° s. EC	Florenzano <i>et al.</i> , 2012
	Israel, Acre	19° s. EC	Eskew <i>et al.</i> , 2019
	Italy, Sardinia, Ducal Palace of Sassari	19° s. EC	Chessa <i>et al.</i> , 2020
<i>Fasciolidae</i>	Egypt, Hierakonpolis	3900 - 3300 AEC	Nezamabadi, 2014
<i>Fasciola</i> sp.	Cyprus, Shillourokambos	8500 - 7500 AEC	Harter, 2003
	Egypt, Saqqara	2400 - 1750 AEC	Harter, 2003
	Sudan, Saï	8° – 4° s. AEC	Harter, 2003
	Egypt, Saqqara	400 - 300 AEC	Harter, 2003
	Sudan, Saï	3° – 4° s. EC	Harter, 2003
	Sudan, Kerma	2400 - 1750 AEC	Harter, 2003
	Greece, Delos	2° – 1 ^{er} s. AEC	Lab analyses
	Israel, Beit Shean	Période romaine	Harter, 2003
	Italy, Ostia	Période romaine	Dufour, 2015
	Southern France	7° – 9° s. EC	Côté <i>et al.</i> , 2016

	Sudan, Sedeinga	4 ^e – 16 ^e s. EC	Harter, 2003
<i>Opistorchis</i> sp.	Italy, Ostia	Période romaine	Dufour, 2015
Paramphistomatidés	Egypt, Hierakonpolis	3900 – 3300 AEC	Nezamabadi, 2014
<i>Paramphistomum</i> sp.	Spain, La Draga	5320 - 4980 AEC	Maicher <i>et al.</i> , 2017
	Greece, Asi Gonia	16 ^e s. EC	Roche <i>et al.</i> 2020
<i>Schistosoma</i> spp.	Syria, Tell Zeidan	4550 - 4050 AEC	Anastasiou <i>et al.</i> , 2014
	Egypt, Thebes, BM 32753 mummy	3200 AEC	Deelder <i>et al.</i> , 1990
	Sudan, Saï	2700 AEC	Harter, 2003
	Sudan, Kerma	2400 - 1750 AEC	Harter, 2003
	Egypt, Rifeh	1950 AEC	Matheson <i>et al.</i> , 2014
	Egypt, Tomb of Parnnefer	15 ^e s. AEC	Horne and Reford, 1995
	Egypt, Deir el- Bahri, Nakht- ROM I mummy (Manchester)	1250 AEC	Reynam <i>et al.</i> , 1977 ; Deelder <i>et al.</i> , 1990
	Egypt, Thebes	12 ^e s. AEC	Reynam <i>et al.</i> , 1977
	Egypt	13 ^e – 11 ^e s. AEC	Ruffer, 1910

	Sudan, Saï	8 ^e – 4 ^e s. AEC	Harter, 2003
	Sudan, Saï	3 ^e s. AEC – 4 ^e s. EC	Harter, 2003
	Sudan, Saï	4 ^e – 16 ^e s. EC	Harter, 2003
	Sudan, Sedeinga	4 ^e – 16 ^e s. EC	Harter, 2003
	Sudan, Wadi Halfa, NAX cemetery	350 - 550 EC	Miller <i>et al.</i> , 1992
	Sudan, Wadi Halfa, NAX cemetery	350 - 550 EC	Hibbs <i>et al.</i> , 2011
	Sudan, Kulubnarti, R cemetery	550 - 750 EC	Hibbs <i>et al.</i> , 2011
	Sudan, Kulubnarti, S cemetery	550-950 EC	Hibbs <i>et al.</i> , 2011

Tableau 3. Helminths (classe : Cestoda).			
Espèces	Origine	Datation	Références
Anoplocephalidés	Egypt, Hierakonpolis	3900 - 3300 AEC	Nezamabadi, 2014

<i>Diphyllobothrium</i> spp.	Cyprus, Shillourokambos	7600 - 7500 AEC	Harter, 2003
	Spain, La Draga	5320- 4980 AEC	Maicher <i>et al.</i> , 2017
	Sudan, Saï	8 ^e – 4 ^e s. AEC	Harter, 2003
	Egypt, Deir el Medineh	400 - 300 AEC	Harter, 2003
	Egypt, Saqqara	400 - 300 AEC	Harter, 2003
	Israel, Beit Shean	200 - 300 EC	Harter, 2003
	France, Marseille	1 ^{er} s. AEC	Dufour, 2015
	Israel, Caeseria	Période romaine	Harter, 2003
	France, Mikelauen-Zilo	Période romaine	Le Bailly and Bouchet, 2013
	Italy, Parma	10 ^e – 11 ^e s. EC	Florenzano <i>et al.</i> , 2012
	France, Pineuilh	10 ^e – 13 ^e s. EC	Le Bailly and Bouchet, 2013
	Israel, Acre	13 ^e s. EC	Mitchell <i>et al.</i> , 2011
	Israel, Jerusalem	15 ^e – 16 ^e s. EC	Yeh <i>et al.</i> , 2015
	Israel, Acre	19 ^e s. EC	Eskew <i>et al.</i> , 2019
Italy, Sardinia, Ducal Palace of Sassari	19 ^e s. EC	Chessa <i>et al.</i> , 2020	
<i>Echinococcus</i> sp.	Egypt	11 ^e – 10 ^e s. AEC	Tapp, 1984

	Israel, Jerusalem	1 ^{er} s. EC	Zias and Mumcuoglu, 1991
<i>Hymenolepis</i> sp.	Egypt, Hierakonpolis	3900 - 3300 AEC	Nezamabadi, 2014
	France, Lattes	4 ^e s. AEC	Jouy-Avantin and Moné, 2003
	Sudan, Saï	3 ^e s. AEC – 4 ^e s. EC	Harter, 2003
	Sudan, Sedeinga	4 ^e – 16 ^e s. AEC	Harter, 2003
<i>Raillietina</i> sp.	France, Lattes	4 ^e s. AEC	Jouy-Avantin and Moné, 2003
Taeniidés	Egypt, Hierakonpolis	3900 - 3300 AEC	Nezamabadi, 2014
	Italy, Parma	10 ^e – 11 ^e s. EC	Florenzano <i>et al.</i> , 2012
<i>Taenia</i> spp.	Cyprus, Shillourokambos	7600 - 7500 AEC	Harter, 2003
	Cyprus, Khirokitia	4640 ± 260 AEC	Harter, 2003
	Spain, La Draga	5320 - 4980 AEC	Côté <i>et al.</i> , 2016 ; Maicher <i>et al.</i> , 2017
	Sudan, Kerma	2400 - 1750 AEC	Harter, 2003
	Egypt, Deir el-Bahri, Nakht-ROM I mummy (Manchester)	1250 AEC	Reynam <i>et al.</i> , 1977
	Egypt, Saqqara	8 ^e – 7 ^e s. AEC	Harter <i>et al.</i> , 2003

	Israel, Jerusalem	7 ^e – 6 ^e s. AEC	Cahill <i>et al.</i> , 1991
	Sudan, Saï	8 ^e – 4 ^e s. AEC	Harter, 2003
	Egypt	3 ^e – 2 ^e s. AEC	Bruschi <i>et al.</i> , 2006
	Sudan, Saï	3 ^e s. AEC – 4 ^e s. EC	Harter, 2003
	Egypt, El-Deir	4 ^e – 5 ^e s. EC	Le Bailly <i>et al.</i> , 2010
	Israel, Qumran	Période hellénistique	Zias <i>et al.</i> , 2006
	Israel, Qumran	1 ^{er} s. AEC	Harter, 2003
	Israel, Beit Shean	200 - 300 EC	Harter, 2003
	Sudan, Saï	4 ^e – 5 ^e s. EC	Harter, 2003
	Sudan, Saï	4 ^e – 16 ^e s. EC	Harter, 2003
	Sudan, Sedeinga	4 ^e – 16 ^e s. EC	Harter, 2003
	Israel, Acre	12 ^e – 13 ^e s. EC	Mitchell and Tepper, 2007
	Israel, Jerusalem	15 ^e – 16 ^e s. EC	Yeh <i>et al.</i> , 2015
	Israel, Acre	19 ^e s. EC	Eskew <i>et al.</i> , 2019

Tableau 4. Helminthess (classe : <i>Acanthocephala</i>).			
Espèces	Origine	Datation	Références
Acanthocephala	Egypt, Hierakonpolis	3900 - 3300 AEC	Nezamabadi, 2014
	Egypt, Kellis	1 ^{er} – 4 ^e s. EC	Horne, 2002
<i>Macracanthorhynchus</i> sp.	Spain, La Draga	5320 - 4980 AEC	Maicher <i>et al.</i> , 2017
	Greece, Asi Gonia	Période romaine	Roche <i>et al.</i> , 2020

Tableau 5. Apicomplexés.			
Espèces	Origine	Datation	Références
<i>Plasmodium</i> spp.	Egypt	3200 AEC	Millet <i>et al.</i> , 1994; Cerutti <i>et al.</i> , 1999; Rabino Massa <i>et al.</i> , 2000
	Egypt, Gebelein	2820 - 2630 AEC	Bianucci <i>et al.</i> , 2008
	Egypt, Thebes	2050 - 500 AEC	Nerlich <i>et al.</i> , 2008
	Egypt	19 ^e – 15 ^e s. AEC	Zink <i>et al.</i> , 2001
	Egypt, Valley of the Kings, Thebes	1410 - 1324 AEC	Hawass <i>et al.</i> , 2010
	Egypt, Deir el-Bahri, Nakht-ROM I mummy (Manchester)	1250 AEC	Nunn and Tapp, 2000

	Egypt	8 ^e s. AEC	Taylor <i>et al.</i> , 1997
	Egypt	806 AEC - 124 EC	Khairat <i>et al.</i> , 2013
	Egypt, Abusir el Meleq	806 AEC - 124 EC	Lalremruata <i>et al.</i> , 2013
	Italy, Velia	1 ^{er} – 2 ^e s. EC	Marciniak <i>et al.</i> , 2016
	Italy, Vagnari	1 ^{er} – 4 ^e s. EC	Marciniak <i>et al.</i> , 2016
	Italy, Lugnano	5 ^e s. EC	Sallares and Gomzi, 2001
	Italy, Florence	16 ^e – 17 ^e s. EC	Fornaciari <i>et al.</i> , 2010
	Spain, Ebro Delta	1942 - 1944 EC	Gelabert <i>et al.</i> , 2016
	Spain, Ebro Delta	1944 EC	Van Dorp <i>et al.</i> , 2019
<i>Toxoplasma gondii</i>	Egypt	806 AEC - 124 EC	Khairat <i>et al.</i> , 2013
<i>Cryptosporidium</i> spp.	Spain, Cova Estreta, Pollença, Mallorca	2830 - 2210 AEC	Borda Nunes <i>et al.</i> , 2017
<i>Eimeria</i> sp.	Egypt, Hierakonpolis	3900 - 3300 AEC	Nezamabadi, 2014

Tableau 6. Flagellés.

Espèces	Origine	Datation	Références
<i>Giardia intestinalis</i>	Israel, Nahal Mishmar	2 ^e s. EC	Witenberg, 1961

	Turkey, Sagalassos	2° – 5° s. EC	Williams <i>et al.</i> , 2017
	Israel, Acre	13° – 14° s. EC	Mitchell <i>et al.</i> , 2008
	Israel, Jerusalem	15° – 16° s. EC	Yeh <i>et al.</i> , 2015
	Israel, Acre	19° s. EC	Eskew <i>et al.</i> , 2019
<i>L. donovani</i>	Egypt, Thebes	2050 - 1650 AEC	Zink <i>et al.</i> , 2006
	Sudan, Kulubnarti	6° – 17° s. EC	Zink <i>et al.</i> , 2006
<i>L. infantum</i>	Italy, Pisa	16° s. EC	Nerlich <i>et al.</i> , 2012

Tableau 7. Amibes.

Espèces	Origine	Datation	Références
<i>Entamoeba histolytica</i>	Greece, Kouphovouno	5000 - 2000 AEC	Le Bailly and Bouchet, 2006
	Spain, Cova Estreta, Pollença, Mallorca	2830 - 2210 AEC	Nunes <i>et al.</i> , 2017
	France, Lattes	1 ^{er} – 2° s. EC	Le Bailly and Bouchet, 2006
	Israel, Nahal Mishmar	2° s. EC	Witenberg, 1961
	France, Castillon-du-Gard	3° s. EC	Gonçalves <i>et al.</i> , 2004

	Italy, Rome	Période romaine	Le Bailly et Bouchet, 2015
	Israel, Acre	13 ^e s. EC	Mitchell <i>et al.</i> , 2008
	Isreal	15 ^e – 16 ^e s. EC	Yeh <i>et al.</i> , 2015
	Israel, Acre	19 ^e s. EC	Eskew <i>et al.</i> , 2019

Tableau 8. Champignons			
Espèces	Origine	Datation	Références
<i>Aspergillus</i> sp.	Egypt, Tomb of Parennefer	15 ^e s. AEC	Horne and Redford, 1995

Tableau 9. Arthropodes.			
Espèces	Origine	Datation	Références
<i>Pediculus humanus capitis</i>	Israel, Nahal Hemar	6900 - 6300 AEC	Zias and Mumcuoglu, 1991
	Egypt, Abydos	3000 AEC	Fletcher, 2002
	Sudan, Kerma	2400 - 1750 AEC	Harter, 2003
	Italy, Herculaneum	79 EC	Capasso and Di Tota, 1998
	Israel, Masada	1 ^{er} s. EC	Mumcuoglu <i>et al.</i> , 2003
	Egypt, Antinoe	5 ^e – 6 ^e s. EC	Palma, 1991

	Israel, Qumran	2 ^e s. AEC – 9 ^e s. EC	Mumcuoglu et Zias, 1988
	Israel, Wadi Farah	2 ^e s. AEC – 9 ^e s. EC	Mumcuoglu, 2008
	Sudan, Sedeinga	4 ^e – 16 ^e s. EC	Harter, 2003
	Egypt, Hierakonpolis	Inconnue	Friedman <i>et al.</i> , 1999
<i>Pediculus humanus humanus</i>	Israel, Masada	1 ^{er} s. EC	Mumcuoglu, 2008
<i>Pulex irritans</i>	France, Saint-Maximin-la-Sainte-Baume	3600 AEC	Remicourt <i>et al.</i> , 2014
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Egypt, El-Deir	1 ^{er} – 4 ^e s. EC	Otranto <i>et al.</i> , 2014
	Egypt, El-Deir	2 ^e – 6 ^e s. EC	Huchet <i>et al.</i> , 2013
<i>Hippobosca longipennis Fabricius</i>	Egypt, El-Deir	2 ^e – 6 ^e s. EC	Huchet <i>et al.</i> , 2013
<i>Sarcosaprophagous flies</i>	Egypt, El-Deir	2 ^e – 6 ^e s. EC	Huchet <i>et al.</i> , 2013

Tableau 10. Bacteries.

Espèces	Origine	Datation	Références
<i>Mycobacterium</i> sp.	Egypt, Nagada	3400 AEC	Crubézy <i>et al.</i> , 1998

<i>M. tuberculosis</i>	Israel, Atlit-Yam	7300 - 6210 AEC	Hershkovitz <i>et al.</i> , 2008
	Egypt, Abydos	3500 - 2650 AEC	Zink <i>et al.</i> , 2003b
	Egypt, Abydos	3000 AEC	Zink <i>et al.</i> , 2001
	Egypt, Thebes	2050 - 500 AEC	Zink <i>et al.</i> , 2003a
	Egypt, Thebes	2100 - 1550 AEC	Zink <i>et al.</i> , 2003b
	Egypt, Thebes	1550 - 1080 AEC	Nerlich <i>et al.</i> , 1997
	Egypt, Thebes	1450 - 500 AEC	Zink <i>et al.</i> , 2003b
	Egypt, Thebes	600 AEC	Donoghue <i>et al.</i> , 2010
	Egypt, Abusir el Meleq	806 BC - 124 AEC	Lalremruata <i>et al.</i> , 2013
	Israel, Karkur	7 ^e s. EC	Donoghue <i>et al.</i> , 1998
	France, Abbaye de la Celle	Moyen Age	Maczel <i>et al.</i> , 2005
	Portugal, Coimbra	19 ^e – 20 ^e s. EC	Redman <i>et al.</i> , 2009
<i>M. africanum</i>	Egypt, Thebes	2050 - 1650 AEC	Zink <i>et al.</i> , 2003a
<i>Mycobacterium leprae</i>	Israel, Akeldema	1 ^{er} s. EC	Matheson <i>et al.</i> , 2009
	Egypt, Dakhleh Oasis	4 ^e s. EC	Donoghue <i>et al.</i> , 2005; Monot <i>et al.</i> , 2009
	Israel, Jerusalem	4 ^e – 7 ^e s. EC	Spigelman and Donoghue, 2001

	Israel, monastery on River Jordan	6 ^e – 7 ^e s. EC	Rafi <i>et al.</i> , 1994
	Italy, Morrione	6 ^e – 8 ^e s. EC	Donoghue <i>et al.</i> , 2015
	Italy, Vicenza	7 ^e s. EC	Donoghue <i>et al.</i> , 2015
	Turkey, Kovuklukaya	8 ^e – 9 ^e s. EC	Minnikin <i>et al.</i> , 2011; Donoghue <i>et al.</i> , 2015
	Croatia, Radasinovci	8 ^e – 9 ^e s. EC	Watson <i>et al.</i> , 2009
	Spain, Sevilla	12 ^e s. EC	Montiel <i>et al.</i> , 2003
<i>Yersinia pestis</i>	France, Montpellier	13 ^e – 14 ^e s. EC	Raoult <i>et al.</i> , 2000
	Italy, Abbadia San Salvatore	14 ^e s. EC	Namouchi <i>et al.</i> , 2018
	Italy, Venice	14 ^e – 16 ^e s. EC	Tran <i>et al.</i> , 2011
	France, Toulouse	1347 - 1350 EC	Spyrou <i>et al.</i> , 2019
	France, Saint Laurent de la Cabrerisse	1348 - 1374 EC	Haensh <i>et al.</i> , 2010; Namouchi <i>et al.</i> , 2018
	Spain, Barcelona	1300 - 1420 EC	Spyrou <i>et al.</i> , 2016
	Italy, Parma	16 ^e – 17 ^e s. EC	Haensh <i>et al.</i> , 2010
	Italy, Florence	15 ^e – 16 ^e s. EC	Cerutti <i>et al.</i> , 2007

	Italy, Barletta	17° s. EC	Scasciamacchia <i>et al.</i> , 2012
	France, Marseille	16° – 18° s. EC	Drancourt <i>et al.</i> , 1998
	France, Marseille	18° s. EC	Bos <i>et al.</i> , 2016
	France, Lambesc	16° – 18° s. EC	Drancourt <i>et al.</i> , 1998
<i>Treponema sp.</i>	Italy, Napoli	16° s. EC	Fornaciari <i>et al.</i> , 1989
<i>T. pallidum pallidum</i>	Spain, crypt of La Ermita de la Soledad	16° - 17° s. EC	Montiel <i>et al.</i> , 2012
<i>S. enterica typhi</i>	Greece, Athens	5° s. EC	Papagrigorakis <i>et al.</i> , 2008
<i>Bartonella quintana</i>	France, Roaix	2000 AEC	Drancourt <i>et al.</i> , 2005
	Italy, Venice	15° – 16° s. EC	Tran <i>et al.</i> , 2011

Tableau 11. Virus.			
Espèces	Origine	Datation	Références
VARV	Italy, Napoli	16° s. EC	Fornaciari <i>et al.</i> , 1986; Marennikova <i>et al.</i> , 1990
<i>Hepatitis B virus</i>	Italy, Napoli	16° s. EC	Ross <i>et al.</i> , 2018

Annexe 2 : Analyses paléoparasitologiques des latrines de Délos

Zone	Latrines	N° catalogue	Nombre d'oeufs par latrine			
			<i>Ascarididae</i>	<i>Trichocephalida</i>	Type Strongyle	<i>Fasciola</i> sp.
Quartier du lac	Îlot des bijoux, Maison I	[D2]	1	-	-	-
Abords est du sud-est du Sanctuaire d'Apollon	Construction à l'est de l'Agora des Déliens	[D16]	-	-	-	-
Quartier du théâtre	Îlot XIII	[D18]	1	-	-	-
Quartier de l'Inopos	Maison au sud de la Maison aux stucs	[D25]	-	-	-	-
Abords nord du Sanctuaire d'Apollon	Monument de Granit	[D65]	3	-	2	-
Abords nord du Sanctuaire d'Apollon	Monument de Granit	[D66]	2	-	-	-
Abords nord du Sanctuaire d'Apollon	Agora des Italiens, latrine 64	[L2]	8	17	2	-
Quartier du lac	Établissement des Posédoniastes de Bérytos	[L4]	44	-	-	1
Quartier du lac	Îlot des bijoux, Maison III	[L7]	1	-	-	-

Quartier du lac	Îlot des bijoux, Maison V	[L8]	-	-	-	-
Quartier du lac	Îlot des bijoux, Maison VI	[L9]	-	-	-	-
Quartier du lac	Îlot de la Maison des comédiens, Maison des comédiens	[L10]	-	-	-	-
Quartier du lac	Maison des Tritons	[L11]	-	-	-	-
Quartier du lac	Îlot des bronzes, Maison I/II	[L12]	-	-	-	-
Quartier du lac	Îlot des bronzes, Maison VI	[L13]	2	-	-	-
Quartier du lac	Îlot des bronzes, Maison VII	[L14]	-	1	-	-
Quartier du lac	Maison des sceaux	[L15]	-	-	-	-
Quartier du lac	Maison B à l'ouest de l'Établissement des Posédoniastes de Bérytos	[L17]	2	1	-	-
Quartier du lac	Maison D à l'ouest de l'Établissement des Posédoniastes de Bérytos	[L18]	-	-	-	-
Quartier du lac	Maison du Lac	[L19]	-	-	-	-
Quartier du lac	Sanctuaire du bastion	[L22]	19	2	-	-

Quartier du lac	Constructions à l'est du lac et de l'Agora des Italiens	[L23]	1	2	1	-
Quartier du stade	Maison IC	[L27]	-	-	-	-
Quartier du stade	Maison ID	[L28]	-	-	-	-
Quartier du stade	Maison IIA	[L30]	1	-	-	-
Abords est et sud-est du Sanctuaire d'Apollon	Maison de Kerdon 2	[L32]	4	-	-	-
Abords est et sud-est du Sanctuaire d'Apollon	Maisons C' à l'est du péribole	[L33]	2	-	-	-
Abords est et sud-est du Sanctuaire d'Apollon	Rue du péribole, Maison D' sud à l'est du péribole	[L34]	-	-	-	-
Abords est et sud-est du Sanctuaire d'Apollon	Maisons E à l'est du péribole	[L35]	1	-	-	-
Abords est et sud-est du Sanctuaire d'Apollon	Maison au nord de la maison F à l'est du péribole	[L36]	-	-	-	-
Quartier du théâtre	Maison II B, latrine f	[L37]	1	-	-	-

Quartier du théâtre	Maison II C, latrine b	[L38]	5	-	-	-
Quartier du théâtre	Maison II C, latrine o	[L38]	-	-	1	-
Quartier du théâtre	Maison II C, latrine s	[L38]	2	-	-	-
Quartier du théâtre	Maison II E	[L39] [D37]	3	-	-	-
Quartier du théâtre	Maison III A	[L41]	1	-	-	-
Quartier du théâtre	Maison III C	[L44]	2	-	-	-
Quartier du théâtre	Maison III F	[L46]	-	-	-	-
Quartier du théâtre	Maison III J	[L47]	-	-	-	-
Quartier du théâtre	Maison III K	[L48]	-	-	-	-
Quartier du théâtre	Maison III Q	[L50]	5	-	-	-
Quartier du théâtre	Maison III S	[L51]	2	2	3	-
Quartier du théâtre	Maison IV B	[L52]	-	1	1	-
Quartier du théâtre	Maison VI F	[L57]	1002	-	2	-
Quartier du théâtre	Maison VI G	[L58]	-	-	-	-
Quartier du théâtre	Maison I entre la Rue supérieure du théâtre et l'Aphrodision	[L63]	-	-	-	-

Quartier du théâtre	Maison II entre la Rue supérieure du théâtre et l'Aphrodision	[L64]	1	-	2	-
Quartier du théâtre	Maison de Cléopâtre/Maison III I	[L65]	1	-	-	-
Quartier du théâtre	Maison III O	[L67]	-	-	1	-
Quartier de l'Inopos	Maison de l'Hermès	[L72]	-	-	-	-
Quartier de l'Inopos	Maison de l'Inopos	[L73]	-	3	-	-
Sanctuaire de la déesse syrienne	Sanctuaire de la déesse syrienne	[L74]	23	-	2	-
Quartier du théâtre	Maison des dauphins	[L75]	-	-	-	-
Quartier du théâtre	Maison des Masques, latrine k	[L76]	19	-	-	-
Quartier du théâtre	Îlot de la Maison des masques, Maison D	[L79]	-	-	-	-
Quartier du théâtre	Hôtellerie	[L80]	-	-	-	-
Sud de Délos	Maison de Fourni, latrine 29 (<i>bothros</i>)	[L81]	-	-	5	-
Quartier du théâtre	Maison IV C	[R5]	-	-	-	-

Quartier du théâtre	Îlot XIII	[R8]	9	-	-	-
---------------------	-----------	------	---	---	---	---

Espèce	Gène ciblé	Séquence obtenue	Taille	Homologie	E-value	Origine
<i>Ascaris</i> sp.	Cytochrome b (Cyt b)	TGGTACTTTTTTGG CTTTTTATTATTCT AATGATGGTGCTT TGGC	45pb	100%	2e-13	Séquençage direct
<i>T. trichiura</i>	Large ribosomal subunit (LSU)	GGTTTAAACTCAA ATCACGTAATGTC TATCGTCGAACAG ACGAGAATAAAAAT TCTTCTGCCAAAC TATATATACAAAT GATTCAACATCGA	92pb	97,8%	2e-33	Clonage
<i>E. vermicularis</i>	Cytochrome oxydase 1 (Cox1)	TCCCCCTATCAAA GTCAACAACCAGT TAAAAATCTTTAC CCCAGTCGGCACA G	53pb	94,34%	9e-13	Clonage

Séquences ADN obtenues après séquençage direct ou clonage bactérien. Les très courtes séquences d'ADN ancien bénéficient d'un clonage préalable afin d'éviter l'oblitération provoquée par la réaction du séquençage Sanger comme il peut être observé sur la séquence d'*Ascaris* sp., obtenue par séquençage direct et dont une partie a semble-t-il été perdue lors du processus (séquence attendue à 74 paires de bases).

Annexe 3 : Étude de la nécropole de la galerie des offices

Galerie des offices, Florence, Italie			
ID labo	ID terrain	Localisation	Ascaridés
UFF17 P1	T8 IND C	Lombaires	3
UFF17P2	T8 IND E	Coccyx	-
UFF17P3	T8 IND E	Coxaux	-
UFF17 P4	T9 IND A	Coxaux	1
UFF17 P5	T9 IND C	Sacrum	179
UFF17 P6	T9 IND E	Coxaux	-
UFF17 P7	T9 IND E	Sacrum	-
UFF17 P8	T10 IND C	Coxaux	-
UFF17 P9	T16 IND ?	Coxaux	-
UFF17 P10	T17 IND B	Coxaux	-
UFF17 P11	T18 IND B	Coxaux	-
UFF17 P12	T18 IND C	Coxaux	-
UFF17 P13	T18 IND D	Coxaux	-
UFF17 P14	T19 IND A	Coxaux	-
UFF17 P15	T19 IND B	Coxaux	-
UFF17 P16	T19 IND C	Coxaux	-
UFF17 P17	T19 IND D	Coxaux	-
UFF17 P18	T20 IND C	Coxaux	-
UFF17 P19	T22 IND A	Coxaux	1
UFF17 P20	T22 IND A	Coccyx	-
UFF17 P21	T22 IND B	Coccyx	1
UFF17 P22	T22 IND B	Sacrum	1
Total	-	-	186

Oeufs observés sous microscope.

Paires d'amorces	Espèces cibles	Gènes cibles	Taille des amplicons (pb)
Asc2	<i>Ascaris lumbricoides</i> <i>Ascaris suum</i> *	Cytochrome b (cytb)	74
Trich4	<i>Trichuris trichiura</i>	Large ribosomal subunit (LSU)	91
Fas3	<i>Fasciola hepatica</i> <i>Fasciola gigantica</i>	rRNA18s (nucléaire)	85
Dicro22	<i>Dicrocoelium dendriticum</i> <i>Dicrocoelium chinensis</i>	Internal transcribed spacer 2 (nucléaire)	76
Entero4	<i>Enterobius vermicularis</i>	Cytochrome oxydase 1 (cox1)	53

* Asc2 ne discrimine pas *A. lumbricoides* de *A. suum* contrairement à Fas3 avec *Fasciola* species.

Les paires d'amorces utilisées ont préalablement désignées par Côté *et al.*, 2016.

Espèces	Gènes cibles	Séquences obtenues	Taille (pb)	Homologie	E-value	Origine
<i>Ascaris</i> sp.	Cytochrome b (Cyt b)	GGTATGGTTTTGGGTT TTCAGATTTTGACTGG TACTTTTTTGGCTTTTT ATTATTCTAATGATGG TGCTTTGGC	74	100%	3e-28	Clones
<i>T. trichiura</i>	Large ribosomal subunit (LSU)	GGTTTAAACTCAAATC ACGTAATGTTTATCGT CGAACAGACGAGAAT AAAATTCTTCTGCAAA CTATATATACAAATGA TTCAACATCGAA	91	97,78%	5e-34	Clones
<i>D. dendriticum</i>	Internal transcribed spacer 2 (ITS2)	TACACACACCTAGTTA TCAGACAGGTGGAGA TGTGTCTACGGAGTCG TGGCTCAGTAATATTT ATGCGCGGTCTGT	76	98,68%	1e-27	Clones

Séquences obtenues avec leurs pourcentages respectifs d'homologie et E-values pour les espèces cibles attendues après une requête BlastN.

Individus	Description des tombes et de leur relations stratigraphiques avec les terres noires
T8 IND C	<p>La tombe multiple était surmontée d'une couche sombre, mais séparée de celle-ci par une couche de limon sableux/argileux. D'autre part, la tombe a été recoupée par un puits d'évacuation des eaux usées de la fin du Moyen Âge, qui a également recoupé le squelette de l'IND C, juste à proximité du bassin, comme le montre la figure 19. Il existe un risque élevé de contamination sur l'ensemble de la zone de la tombe. La contamination est prouvée par l'aspect sombre et collant du sol et par la couleur brun foncé et la consistance plus fragile des ossements.</p>
T9 IND C	<p>La tombe multiple était étroitement surmontée d'une couche sombre, qui représentait le fond d'une fosse creusée au début du Moyen Âge. Elle n'atteignait pas la tombe mais dans la partie ouest de celle-ci elle s'approchait jusqu'à quelques cm. En revanche, l'IND C se trouvait presque à l'extrémité opposée, où une couche de limon plus élevée était intercalée. La tombe a également été recoupée par un puits d'évacuation des eaux usées datant de la fin du Moyen Âge ; toutefois, la coupe a eu lieu sur le côté ouest et est donc éloignée de l'IND C, située à l'est. Nous pouvons donc considérer l'IND C comme exempte de toute contamination.</p>
T17 IND B	<p>Les couches sombres au-dessus de ces tombes se trouvaient à une distance d'au moins un demi-mètre, l'interposition du limon sablo-argileux, très compact, représentant une barrière efficace contre la percolation des corpuscules et des macromolécules. En outre, elles ne sont pas recoupées par des puits et sont donc considérées comme exemptes de contamination, bien que nous devions noter que la T17 n'a pas été entièrement fouillée parce qu'elle dépassait la limite établie de la zone de fouille, donc nous ne sommes pas sûrs de son intégrité. Quoiqu'il en soit, le type de remplissage en limon argilo-sableux jaune suggère qu'il n'y avait pas de sources de pollution.</p>
T18 IND B	
T22 IND B	

Description des tombes contenant les individus échantillonnés, leur relation stratigraphique par rapport aux couches sombres ultérieures et aux puits, et évaluation des risques de contamination sur place.

Annexe 4 : Étude paléoparasitologique de la tourbière d'Asi Gonia

Tourbière d'Asi Gonia, Crète, Grèce											
ID labo	Chrono Cal BP	<i>Ascaris</i> sp.	Strongle	<i>Trichuris</i> sp. (Grand)	<i>Trichuris</i> sp. (Petit)	<i>Trichuris</i> ornementé	<i>Capillaria</i> réticulé fin	<i>Capillaria</i> réticulé épais	<i>Macracanthorhynchus</i> sp.	<i>Fasciola</i> sp.	<i>Paramphistomum</i> sp.
AG1729	1980	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
AG1701	1932	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AG1717	1806	-	1	-	-	6	-	-	-	-	-
AG1705	1671	-	-	-	-	1	1	1	-	-	-
AG1716	1564	-	-	-	-	3	-	-	-	-	2
AG1715	1440	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-
AG1714	1333	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
AG1721	1224	1	-	-	-	3	-	-	-	-	-
AG1720	1153	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-
AG1713	1085	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-
AG1702	1051	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
AG1712	948	-	-	-	-	-	-	3	-	1	-
AG1711	843	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AG1710	746	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AG1706	675	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
AG1719	570	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
AG1709	450	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
AG1703	299	-	-	-	1	1	2	-	1	-	-
AG1718	203	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
AG1704	100	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-
AG1708	94	-	-	-	-	-	2	4	-	-	-
AG1707	-57	-	-	-	1	2	1	-	3	-	-
Total	-	1	1	4	2	21	11	10	4	1	2

Annexe 5 : Autres sites étudiés

Résultats sur le site de Mare Stagno (France, Corse)

Mare Stagno, France				
ID labo	US	échantillon	Ascaridés	Strongles
MS1703	US CU314 C321 B	Sédiment	1	-
MS1704	US CU314 C321 C	Sédiment	-	-
MS1706	US CU314 C323 B	Sédiment	-	-
MS1707	US CU314 C323 C	Sédiment	-	-
MS1708	US CU314 C325 A	Sédiment	-	2
MS1711	US CU314 C325 D	Sédiment	-	-
MS1713	FS238 C239 B	Sédiment	-	-
MS1714	FS238 C239 C	Sédiment	-	-
MS1716	FS236 C237 B	Sédiment	-	-
MS1717	FS236 C237 C	Sédiment	-	-
MS1719	US CN224 2	Sédiment	-	-
MS1721	US CN224 4	Sédiment	-	-
MS1722	US CN217 1	Sédiment	-	-
MS1723	US CN217 2	Sédiment	-	-
MS1726	US FS203 B	Sédiment	-	-
MS1727	US FS203 C	Sédiment	-	-
MS1732	US FS292 B	Sédiment	-	-
MS1733	US FS292 C	Sédiment	-	-
MS1735	US FS294 B	Sédiment	-	-
MS1736	US FS294 C	Sédiment	-	-
MS1738	US FS296 B	Sédiment	-	-
MS1739	US FS296 C	Sédiment	-	-
MS1741	US 307 B	Sédiment	-	-
MS1742	US 307 C	Sédiment	-	-
MS1743	US 239 FS238	Concrétion non identifiées	-	-
MS1744	US 239 FS238	Concrétion non identifiées	-	-
Total	-	-	1	2

Résultats sur le site de La Biagiola (Italie, Latium)

La Biagiola, Italie						
ID labo	US	échantillon	Localisation	Ascaridés	<i>Ascaris</i> sp.	Strongles
LB1701	T17_02 US1315	Sédiment (in situ)	Sous le sacrum	-	-	-
LB1702	T17_02 US1315	Sédiment (in situ)	Sous le sacrum	-	-	10
LB1703	T17_02 US1315	Sédiment (in situ)	Entre les fémurs proximaux	-	-	3
LB1704	T17_02 US1315	Sédiment (in situ)	Tête (ctrl)	-	-	-
LB1705	US1264	Sédiment (museum)	Sur/dans le sacrum	1	-	2
LB1706	US1295	Sédiment (museum)	Sur/dans le sacrum	15		
LB1707	US1245	Sédiment (museum)	Sur/dans le sacrum	4	-	-
LB1708	US560	Sédiment (museum)	Sur/dans le sacrum	2	1	-
LB1709	US1255	Sédiment (museum)	Sur/dans le sacrum et les cocaux	-	-	-
LB1710	US1255	Sédiment (museum)	Tête (ctrl)	-	-	-
LB1711	US1258	Sédiment (museum)	Sur/dans le sacrum	7	1	-
LB1712	US1243	Sédiment (museum)	Sur/dans le sacrum et les coxaux	1	-	-
LB1713	US1083	Sédiment (museum)	Pubis	1	-	-
LB1714	T17_01 US 1295	Sédiment (in situ)	Entre les fémurs proximaux	1	-	-
LB1715	T17_01 US 1295	Sédiment (in situ)	Sous le sacrum	-	-	-
LB1716	T17_01 US 1295	Sédiment (in situ)	Pieds (ctrl)	2	-	-
LB1717	T17_01 US 1295	Sédiment (in situ)	Sur le sacrum	3	-	-
Total	-	-	-	37	1	15

Résultats sur le site de Kardamaina (Grèce, Kos)

échantillons positifs à Kardamaina, Kos, Grèce					
ID labo	ID terrain	échantillons	fouilles	Ascaridés	Strongles
K1701	A20 / 2011	Concrétions	Anciennement fouillé et exposé aux intempérisations	-	2
K1704	A24 / 2011	Concrétions	Anciennement fouillé et exposé aux intempérisations	10	-
K1706	K28 2001 / 2011	Concrétions	Anciennement fouillé et exposé aux intempérisations	2	2
K1708	K28 2001 / 2011	Sédiment	Jamais fouillé	45	-
K1709	K28 2001 / 2011	Sédiment	Jamais fouillé	28	-
K1710	K28 2001 / 2011	Sédiment	Jamais fouillé	22	-
K1711	K28 2001 / 2011	Concrétions	Jamais fouillé	8	-
Total	-	-	-	115	4

Résultats sur le site de Labraunda (Turquie)

Labraunda, Turquie				
ID labo	échantillons	Ascaridés	<i>Ascaris sp.</i>	<i>Trichuris sp.</i>
LA1701	Sédiment	10	-	1
LA1702	Sédiment	8	-	-
LA1703	Sédiment	14	-	-
LA1704	Sédiment	21	-	-
LA1705	Sédiment	37	-	-
LA1706	Sédiment	10	-	-
LA1707	Sédiment	11	-	-
LA1708	Sédiment	11	1	-
Total	-	122	1	1

Résultats sur le site d'Utique (Tunisie)

Utique, Tunisie		
ID labo	échantillons	Ascaridés
UT1701	Sédiment	-
UT1702	Sédiment	-
UT1703	Sédiment	-
UT1704	Sédiment	1
UT1705	Sédiment	10
UT1706	Sédiment	3
Total	-	14

Résultats sur le site de Pollentia (Espagne, Majorque)

Pollentia, Espagne, Majorque						
ID labo	ID terrain	échantillons	Ascaridés	<i>Ascaris</i> sp.	<i>Trichuris</i> sp.	Contexte
P1709	US 9202	Sédiment	1	-	-	Fosse, Antiquité tardive – Moyen Âge
P1710	US 9202	Sédiment	1	-	-	
P1711	US 9202	Sédiment	1	-	-	
P1701	US 9205	Sédiment	5	-	-	Fosse, Antiquité tardive – Moyen Âge
P1702	US 9205	Sédiment	57	-	-	
P1703	US 9205	Sédiment	166	1	-	
P1704	US 9492	Sédiment	46	-	-	Egout romain, zone des fortifications
P1705	US 9492	Sédiment	78	-	-	
P1706	US 9492	Sédiment	584	-	1	
P1707	US 9492	Dépôts fond d'égoût	28	-	7	
P1708	US 9492	Sédiment	265	-	-	
P1712	-	Dépôts sol	-	-	-	Marcellum
P1713	-	Sédiment	6	-	-	Egout romain, marcellum
P1714	-	Sédiment	15	-	-	
P1715	-	Sédiment	17	-	-	
P1716	-	Sédiment	14	-	-	Egout romain, zone résidentielle
P1717	-	Sédiment	4	-	-	
P1718	-	Sédiment	4	-	-	
P1720	-	Sédiment	8	-	-	Fosse romaine putative, zone résidentielle
P1721	-	Sédiment	8	-	-	
P1723	-	Sédiment	4	-	-	
P1724	-	Sédiment	4	1	1	
P1727	-	Sédiment	10	-	-	
Total	-	-	1326	2	9	-

Les échantillons pour lesquels aucun ID de terrain n'est indiqué ont été collectés dans des zones anciennement ou jamais excavées.

Résultats sur le site de Baelo Claudia (Espagne)

ID labo	échantillons	Ascaridés	Strongles	Contextes
BC1702	Sédiment	-	-	Abside tardive (4-6 ^e s. AD), profile 1, couche orange
BC1703	Sédiment	11	-	"
BC1705	Sédiment	27	-	Abside tardive (4-6 ^e s. AD), profile 1, couche marron
BC1706	Sédiment	12	-	"
BC1708	Sédiment	16	-	Abside tardive (4-6 ^e s. AD), profile 1, couche bleu-foncé

BC1709	Sédiment	2	-	“
BC1711	Sédiment	1	-	Abside tardive (4-6 ^e s. AD), profile 1, couche bleu-clair
BC1712	Sédiment	3	-	“
BC1725	Sédiment	-	-	US32 005, sépulture primaire, sédiment au contact des forams sacrés, nécropole paléochrétienne jouxtant la ville
BC1726	Sédiment	-	-	Idem, sédiment entre les fémurs
BC1727	Sédiment	-	-	Idem, sédiment sur le coxal droit
BC1729	Sédiment	-	-	US32 014, sépulture primaire, sédiment au contact des coxaux, nécropole paléochrétienne jouxtant la ville
BC1730	Sédiment	-	-	T32, sépulture primaire, immature en sarcophage, sédiment entre les fémurs
BC1732	Sédiment	-	-	Canalisation augustéenne non fouillée, sédiment en partie médiane
BC1733	Sédiment	-	-	Canalisation augustéenne non fouillée, sédiment en partie inférieure
BC1736	Sédiment	30	-	Canalisation en amont de l'édifice monumental, époque impériale sédiment en partie médiane
BC1737	Sédiment	4	-	Canalisation en amont de l'édifice monumental, époque impériale sédiment en partie inférieure
BC1740	Sédiment	1	-	US 554, Canalisation au sur de l'édifice monumentale, période impériale, sédiment en partie médiane
BC1741	Sédiment	-	-	US 555, Canalisation au sur de l'édifice monumentale, période impériale, sédiment en partie inférieure
BC1743	Sédiment	1	2	US 08 Canal de l'aqueduc de Punta Palona, époque tardive, sédiment de comblement en partie supérieure
BC1744	Sédiment	2	-	“, sédiment de comblement en partie médiane
BC1745	Sédiment	1	-	“ sédiment de comblement en partie inférieure
Total	-	111	2	-

Contribution à la paléoparasitologie du bassin méditerranéen antique. Hygiène, alimentation et environnement, une approche microscopique et paléogénétique

La paléoparasitologie s'intéresse aux traces conservées de parasites, majoritairement en contexte archéologique. Cette thèse passe en revue les données actuellement disponibles concernant la détection de parasites dans le bassin méditerranéen durant l'Holocène. Cette revue permet de mettre en évidence le grand nombre de données publiées pour une large époque gréco-romaine, comparativement aux autres périodes, et la diversité des méthodes employées pour la détection de ces biorestes, ainsi que les zones et problématiques restant largement à explorer. Cela concerne notamment le besoin d'études exhaustives plutôt que ponctuelles, la recherche en contexte archéofunéraire, la systématisation de l'approche paléogénétique, et la recherche en archives naturelles « hors-sites ». Trois études de cas originales sont présentées en détails dans la suite du manuscrit, et s'inscrivant dans ce même contexte chrono-géographique : l'étude exhaustive des latrines de la ville de Délos, dans les Cyclades, à l'époque hellénistique et impériale ; l'étude de la population archéologique des sépultures tardo-antiques de masse de la Galerie des Offices à Florence ; et l'étude de la tourbière d'Asi Gonia en Crète de l'époque romaine à nos jours. Ces contextes écologiques variés illustrent trois niveaux d'analyses complémentaires : le niveau collectif de l'espace urbain ; le niveau individuel d'une population archéologique ; l'archive naturelle témoignant de l'anthropisation d'un territoire. Sur deux de ces sites, l'approche combinée de la microscopie et de la paléogénétique a montré son grand intérêt et la nécessité d'implanter la recherche d'ADN ancien dans le diagnostic paléoparasitologique de routine.

Mots-clés : paléoparasitologie ; paléogénétique ; microscopie ; ADNa ; Antiquité ; Grèce ; archéologie environnementale.

Contribution to the paleoparasitology of the ancient Mediterranean basin: hygiene, diet and environment, a microscopic and paleogenetic approach

Paleoparasitology is concerned with the preserved traces of parasites, mostly in archaeological contexts. This thesis reviews the currently available data concerning the detection of parasites in the Mediterranean basin during the Holocene. This review highlights the large amount of published data for a broad Greco-Roman period, compared to other periods, and the diversity of methods used for the detection of these biological remains, as well as the areas and issues that remain largely unexplored. These include the need for comprehensive rather than ad hoc studies, research in archaeofunerary contexts, the systematisation of the paleogenetic approach, and research in 'off-site' natural archives. Three original case studies are presented in detail in the remainder of the manuscript, all within this same chrono-geographical context: the comprehensive study of the latrines of the city of Delos, in the Cyclades, in Hellenistic and Imperial times; the study of the archaeological population of the Late Antique catastrophe burials under the Uffizi Gallery in Florence; and the study of the Asi Gonia peat bog in Crete from Roman times to the present. These varied ecological contexts illustrate three complementary levels of analysis: the collective level of the urban space; the individual level of an archaeological population; the natural archive testifying to the anthropisation of a territory. On two of these sites, the combined approach of microscopy and palaeogenetics has shown its great interest and the need to implement ancient DNA research in routine paleoparasitological diagnosis.

Key-words: paleoparasitology; paleogenetics; microscopy; aDNA; Antiquity; Greece; environmental archaeology.