



HAL
open science

beDNA : un projet visant à la collection systématique d'échantillons humains archéologiques à vocation paléogénétique – une première expérimentation

Pauline Ehrhardt, Philippe Chambon, Eric Gimel, Evelyne Heyer, Sophie Lafosse, Pascal Sellier, Aline Thomas, Céline Bon

► To cite this version:

Pauline Ehrhardt, Philippe Chambon, Eric Gimel, Evelyne Heyer, Sophie Lafosse, et al.. beDNA : un projet visant à la collection systématique d'échantillons humains archéologiques à vocation paléogénétique – une première expérimentation. *Bulletins et Mémoires de la Société d'anthropologie de Paris*, 2023, 35 (1), 10.4000/bmsap.11516 . halshs-04389666v2

HAL Id: halshs-04389666

<https://shs.hal.science/halshs-04389666v2>

Submitted on 11 Jan 2024

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

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

beDNA : un projet visant à la collection systématique d'échantillons humains archéologiques à vocation paléogénétique – une première expérimentation

*beDNA: A project for systematic collection of archaeological human samples for
palaeogenetics purposes – first trial*

**Pauline Ehrhardt, Philippe Chambon, Eric Gimel, Evelyne Heyer, Sophie
Lafosse, Pascal Sellier, Aline Thomas et Céline Bon**

**Édition électronique**

URL : <https://journals.openedition.org/bmsap/11516>

DOI : [10.4000/bmsap.11516](https://doi.org/10.4000/bmsap.11516)

ISSN : 1777-5469

Éditeur

Société d'Anthropologie de Paris

Référence électronique

Pauline Ehrhardt, Philippe Chambon, Eric Gimel, Evelyne Heyer, Sophie Lafosse, Pascal Sellier, Aline Thomas et Céline Bon, « beDNA : un projet visant à la collection systématique d'échantillons humains archéologiques à vocation paléogénétique – une première expérimentation », *Bulletins et mémoires de la Société d'Anthropologie de Paris* [En ligne], 35 (1) | 2023, mis en ligne le 30 janvier 2023, consulté le 18 octobre 2023. URL : <http://journals.openedition.org/bmsap/11516> ; DOI : <https://doi.org/10.4000/bmsap.11516>



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



BMSAP

Bulletins et Mémoires de la Société d'Anthropologie de Paris

VOLUME 35 # 1

AVRIL 2023

ISSN 0037-8984

Publication fondée en 1859



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

beDNA : un projet visant à la collection systématique d'échantillons humains archéologiques à vocation paléogénétique – une première expérimentation

beDNA: A project for systematic collection of archaeological human samples for palaeogenetics purposes – first trial

Pauline Ehrhardt^{1*}, Philippe Chambon¹, Eric Gimel¹, Evelyne Heyer¹,
Sophie Lafosse¹, Pascal Sellier¹, Aline Thomas¹, Céline Bon¹

1 UMR 7206 Éco-Anthropologie (EA), CNRS, Muséum national d'Histoire naturelle, Université de Paris, Musée de l'Homme, Paris, France

* pauline.ehrhardt@mnhn.fr

Reçu : 23 juillet 2021 ; accepté : 2 septembre 2022
Bulletins et Mémoires de la Société d'Anthropologie de Paris

Résumé – La paléogénétique occupe désormais une place importante dans les problématiques archéologiques. Toutefois, les analyses d'ADN ancien peuvent être desservies, voire empêchées, par l'état de préservation des échantillons en raison de contamination par de l'ADN moderne ou de mauvaises conditions de stockage. Le projet beDNA, "banque d'échantillons et de Données Nationale Archéogénétique", souhaite donner les moyens d'analyses paléogénétiques futures, en proposant le stockage systématique d'échantillons des squelettes humains tenant compte des contraintes inhérentes à la préservation de l'ADN ancien. Le projet implique (1) un protocole systématique d'échantillonnage "propre" des restes humains sur le terrain commun à toutes les opérations archéologiques, (2) un espace de stockage dédié à ces échantillons adapté à la conservation de l'ADN ancien, (3) une base de données faisant le lien entre les sites et les échantillons conservés dans la banque, (4) l'approbation par l'État des demandes d'analyse d'échantillons après expertise. La phase de test du projet, initiée en septembre 2020 sur la région Île-de-France, nous a permis d'évaluer et d'ajuster le protocole d'échantillonnage sur le terrain et les dispositifs de transfert vers la banque. Cette note présente les étapes envisagées pour chaque échantillon, depuis les terrains jusqu'aux laboratoires d'analyse génétique, ainsi que le déroulement de sa phase test, en cours, et les premiers retours d'expérience.

Mots clés – banque de données, paléogénétique, ADN ancien, ostéologie humaine, archéologie

Abstract – Palaeogenetics is becoming increasingly important in tackling archaeological issues. However, analyses of ancient DNA can be hampered or even prevented by the state of preservation of samples due to poor storage conditions, and because of contamination by modern DNA. The beDNA project for a national archaeological genetic data and sample

bank (*banque d'échantillons et de Données Nationale Archéogénétique*) is developing the means to enable future palaeogenetic analyses by systematically storing human skeletal samples, with the constraints inherent to the preservation of ancient DNA taken into account. This project comprises (1) a systematic protocol for "clean" sampling of human remains to be common to all archaeological operations, (2) a dedicated storage space for samples, suited to aDNA preservation, (3) a database linking sites with the samples stored in the bank, (4) approval of sample analysis requests by authorities, after expert review. The test phase of the project, which began in September 2020 in the Île-de-France region, enabled us to evaluate and adjust both the sampling protocol in the field and the transfer process to the beDNA bank. This note describes the different stages envisaged for each sample, from the archaeological field to the genetics laboratory, as well as the development of the experimental phase and initial feedback from it.

Keywords – databank, palaeogenetics, ancient DNA, human osteology, archaeology

Introduction

Depuis le premier article sur l'ADN ancien en 1984 (Higuchi et al., 1984) suivi par la publication de génomes complets et avec 6442 génomes d'individus anciens publiés ("Allen Ancient DNA Resource <https://reich.hms.harvard.edu/allen-ancient-dna-resource-aadr-downloadable-genotypes-present-day-and-ancient-dna-data>", version 52.2), la paléogénétique a pris une importance considérable dans l'étude des populations humaines et intègre les interprétations archéologiques. Cette discipline apporte de nombreuses informations qui demeurent inaccessibles ou indirectes sur la seule base des données ostéologiques (p. ex. sexe

biologique des squelettes immatures, mélanges de populations, traits phénotypiques, parenté biologique). La suite logique des avancées techniques en génétique et en génomique sera le développement de nombreux projets d'études centrés sur l'ADN ancien, aux problématiques variées.

À l'image d'autres analyses, le caractère destructeur de la paléogénétique n'est pas négligeable. La multiplication des projets conduit déjà à une augmentation du nombre de demandes de destruction de matière osseuse ou dentaire sur les restes humains archéologiques (voire de nouveaux prélèvements sur de mêmes individus). De plus, si de l'ADN ancien peut être retrouvé sur différentes pièces du squelette, certaines parties, comme la partie pétreuse de l'os temporal, sont privilégiées (Parker et al., 2020), limitant à terme le nombre d'études pouvant être menées sur un individu. En pratique, l'expérience montre une dispersion des restes humains entre plusieurs structures, légitimes (dépôts archéologiques sous la responsabilité des services régionaux de l'archéologie comme les Centres de Conservation et d'Études) ou non (opérateurs archéologiques après la fin de l'opération, emprunts non référencés, différentes structures universitaires). Cette situation, qui rend le suivi des échantillons complexe au fil des années, aboutit à la mise en œuvre de critères variables pour chaque autorisation d'étude invasive, et à des gestions différentes de ces collections qui, pourtant, ont toutes le même statut légal, la réglementation et la conservation des restes humains étant, en France, sous la responsabilité de l'État. La gestion des vestiges humains archéologiques, et en particulier de ceux susceptibles de faire l'objet de destruction pour analyses paléogénétiques, devient une question cruciale. Dans ce contexte, une réflexion a été ouverte par le ministère de la Culture au début de l'année 2020 à travers la mise en place du groupe de travail Paohce¹. Celui-ci avait pour objectif de statuer sur les protocoles de prélèvements et d'analyses des restes humains archéologiques, ainsi que sur la conservation des échantillons. Élaboré et évoluant indépendamment de ce groupe de travail, le projet beDNA a néanmoins participé à la réflexion dans la mesure où un certain nombre de problèmes soulevés par Paohce sont à l'origine du projet beDNA.

Malgré les avancées technologiques récentes, l'objet des études paléogénétiques, l'ADN ancien, reste une molécule fragile et soumise à de nombreuses contraintes matérielles, ce qui peut en rendre l'étude complexe et l'interprétation plus encore. En effet, l'ADN peut subsister pendant plusieurs milliers d'années (Dabney et al., 2013 ; van der Valk et al., 2021) mais la molécule est soumise à une dégradation *post-mortem* continue, due à l'instabilité des acides nucléiques (Serre et al., 2004 ; Willerslev et Cooper, 2005 ; Weiß et al., 2016). Le recul de plus de 30 ans d'études paléogénétiques

a permis de caractériser les contraintes majeures inhérentes à l'ADN ancien :

- diminution de la quantité d'ADN (propre à l'espèce étudiée) liée à la dégradation au cours du temps ;
- altération de cet ADN (fragmentation en courts segments) ;
- contamination par l'ADN environnemental et, parfois, par l'ADN humain moderne.

De nombreux facteurs interviennent dans cette dégradation de l'ADN, tels que la température élevée ou variable, le pH, la composition chimique du sol ou de l'os, l'humidité et les rayonnements UV (Hofreiter et al., 2001). Une étude de Pruvost et al. (2006) a montré que des ossements fouillés anciennement, prélevés et conservés dans des conditions non-optimales (manipulations sans gants ni masques, conservation à une température et hygrométrie non contrôlées), contiennent six fois moins d'ADN exploitable que des ossements étudiés directement après la fouille et non traités. La comparaison d'échantillons prélevés directement après la sortie du terrain, et des échantillons prélevés après études ostéologiques, montre que les contaminations dues à une manipulation et au lavage des échantillons peuvent même résister aux traitements de décontamination effectués en laboratoire (Pilli et al., 2013). Les conditions de conservation après le prélèvement sont également cruciales et expliquent jusqu'à 8 % de la variabilité de la préservation de l'ADN dans un corpus de 158 restes osseux (Allentoft et al., 2012). En bref, ces nombreuses études soulignent l'enjeu des traitements et conditions de conservation des échantillons humains après exhumation pour la conservation du matériel génétique.

L'organisation de l'archéologie préventive conduit encore rarement à la programmation d'un projet d'analyse paléogénétique d'un corpus de squelettes avant sa mise au jour. Les études ont généralement lieu bien après les travaux de terrain, une fois le matériel lavé, étudié et stocké. Dans certaines circonstances idéales mais peu fréquentes, le projet d'analyse paléogénétique est programmé en amont de la fouille, en lien avec les archéologues et anthropologues de terrain. Une telle anticipation permet d'établir, dans une démarche concertée, un protocole de prélèvement de certaines pièces osseuses ou dentaires sur le terrain, puis leur conditionnement optimal jusqu'au laboratoire de paléogénétique. Un tel protocole suppose le déploiement d'efforts supplémentaires sur le terrain, mais le gain, en termes de conservation génétique et de potentiel d'étude ne fait aucun doute. C'est par exemple la stratégie adoptée lors de la fouille de la nécropole néolithique de Fleury-sur-Orne en 2014, sous la direction scientifique de E. Ghesquière (INRAP) et P. Chambon (CNRS) (Ghesquière et al., 2019). Les protocoles de prélèvements des pièces osseuses et dentaires sur le terrain, puis leur mode de conditionnement jusqu'au laboratoire d'analyses génétiques, ont été établis en concertation avec les paléogénéticiennes M.-F. Deguiloux (Université de Bordeaux) et M. Rivollat (Université de Bordeaux). Les manipulations sur le terrain ont été réalisées sous la supervision de P. Chambon (CNRS),

1 "Protocoles de Prélèvements et d'Analyses sur l'Os Humain ainsi que sur la Conservation des Échantillons", coordonné par C. Cribellier (SDA), C. Billard (SRA) et P. Chambon (CNRS), 2020-2021.

C. Thevenet (INRAP) et A. Thomas (MNHN). Les résultats en termes de conservation (Rivollat et al., 2022) confirment l'intérêt de la démarche.

Le prélèvement raisonné d'échantillons de restes humains par l'anthropologue dès le terrain, et la "sanctuarisation" de ces pièces jusqu'à la paillasse du généticien, garantissent le cadre optimal de l'analyse paléogénétique. Malheureusement, force est de constater que ce cadre ne peut être assuré qu'exceptionnellement. La quasi-totalité des restes humains mis au jour en contexte de fouille préventive ou programmée est soumise aux traitements classiques de la fouille, de la post-fouille et du stockage des vestiges archéologiques.

Objectifs du projet d'une banque d'échantillons

Le projet "banque d'échantillons et de Données Nationale Archéogénétique", ou beDNA, est né de ce constat. Si les conditions de traitement et de conservation des restes humains sortis de fouilles sont parfaitement justifiées pour la préservation de la morphologie des squelettes, elles s'avèrent malheureusement défavorables à la préservation du matériel génétique (manipulations multiples et non protégées, lavages, remontages, locaux de stockage soumis aux variations saisonnières des températures parfois extrêmes). Les solutions existent pourtant, à condition qu'un protocole de prélèvement d'échantillons soit anticipé dès le terrain et suivi d'un mode de conservation adapté, jusqu'à l'analyse paléogénétique elle-même. Or, pour que ces solutions soient étendues à tous les vestiges humains mis au jour, quatre conditions s'imposent : (i) l'application d'un protocole systématique de prélèvement d'échantillons sur le terrain, (ii) le transfert de ces échantillons dans un lieu pérenne de conservation aux conditions optimales de préservation du matériel génétique, (iii) la mise en place d'une base de données garantissant la centralisation des prélèvements effectués, le suivi et la diffusion des données relatives aux échantillons en lien avec leur site d'origine, (iv) un protocole assurant la mise à disposition des échantillons aux laboratoires de paléogénétique, selon n'importe quel délai après la clôture de la fouille, et un suivi simplifié des demandes de prélèvement, selon les conditions classiques d'accès aux vestiges humains imposées par l'État.

Afin de répondre à ces objectifs, le projet beDNA a émergé à partir de 2016 au sein de l'UMR 7206. Sur la sollicitation du ministère de la Culture, le projet a été présenté au printemps suivant au Conseil national de la recherche archéologique (CNRA), qui a émis un avis positif. Plusieurs réunions de concertation, afin de discuter du projet avec les communautés des paléogénéticiens, anthropologues et archéologues, ont également été organisées. La mise en place d'une convention de conservation entre le service régional de l'archéologie (SRA) Île-de-France et le Muséum national d'Histoire naturelle (MNHN), ainsi que le financement d'une ingénieure (IE) dédiée au projet, ont permis le lancement de la phase expérimentale en septembre 2020 sur la région Île-de-France. Depuis septembre 2021, les prescriptions du SRA Île-de-France incluent désormais

le protocole de prélèvement d'échantillons des restes humains proposé par le projet beDNA. Soulignons que le projet ne modifie pas le statut légal des restes humains mis au jour en contexte archéologique, qui demeurent sous le contrôle de l'État. Les analyses paléogénétiques qui seront réalisées sur ces échantillons dépendent de son approbation, comme pour tout autre vestige, quel que soit leur lieu de dépôt. La centralisation des échantillons associés à une base de données permettra un suivi simple des prélèvements et facilitera la standardisation des demandes d'analyses invasives comme le suivi des études.

Parcours des échantillons, du terrain aux laboratoires de paléogénétique

Pour garantir la faisabilité des études paléogénétiques futures, le projet beDNA envisage la préservation d'échantillons ostéo-dentaires de tous les individus mis au jour sur un site archéologique. L'ensemble des opérations (diagnostic, fouille préventive, fouille programmée) est concerné. Une fois isolées, les pièces ostéo-dentaires sont transmises à la banque beDNA, qui se charge de l'enregistrement des données et de la gestion de leur conservation (figure 1). Lorsqu'un laboratoire de paléogénétique obtient l'accord de l'État selon les modalités prévues par celui-ci pour l'étude invasive d'échantillons conservés dans la banque, le référent beDNA met à disposition les échantillons demandés. La destruction partielle ou totale des échantillons sera réalisée en condition stérile (salle blanche), dans le laboratoire de paléogénétique (figure 1). Nous détaillons dans les parties suivantes l'ensemble de ces étapes.

Choix des échantillons

Parce qu'il est pour l'instant impossible de conserver l'ensemble du squelette dans des conditions adéquates, le projet prévoit que deux échantillons soient isolés par individu. Dans l'état actuel des connaissances, les dents pluriradiculées (non fragmentées et non cariées) et la partie pétreuse de l'os temporal sont les éléments du squelette qui préservent le mieux l'ADN, en raison de leur densité, de la protection par le crâne ou par le ciment et l'émail vis-à-vis de l'environnement (Parker et al., 2020), mais aussi, dans le cas de la partie pétreuse, de son ossification précoce (six mois *in utero*) et de l'absence de remodelage au cours de la vie de l'individu (Pinhasi et al., 2019). Cependant, si la partie pétreuse est la plus favorable à la préservation de l'ADN endogène, elle peut ne pas contenir l'ADN de pathogènes présents dans le sang, qui sont, eux, plutôt retrouvés dans la racine des dents (Margaryan et al., 2018). Le double échantillonnage permettra donc de favoriser différents types d'analyse. La conservation dans les sites archéologiques étant variable, ces parties du squelette ne sont pas toujours disponibles. Si ni la partie pétreuse de l'os temporal, ni une dent ne peuvent être prélevées (crâne complet que l'on ne veut pas briser, dents dont les racines sont incomplètes, absence du symétrique, etc.), ou s'ils ne

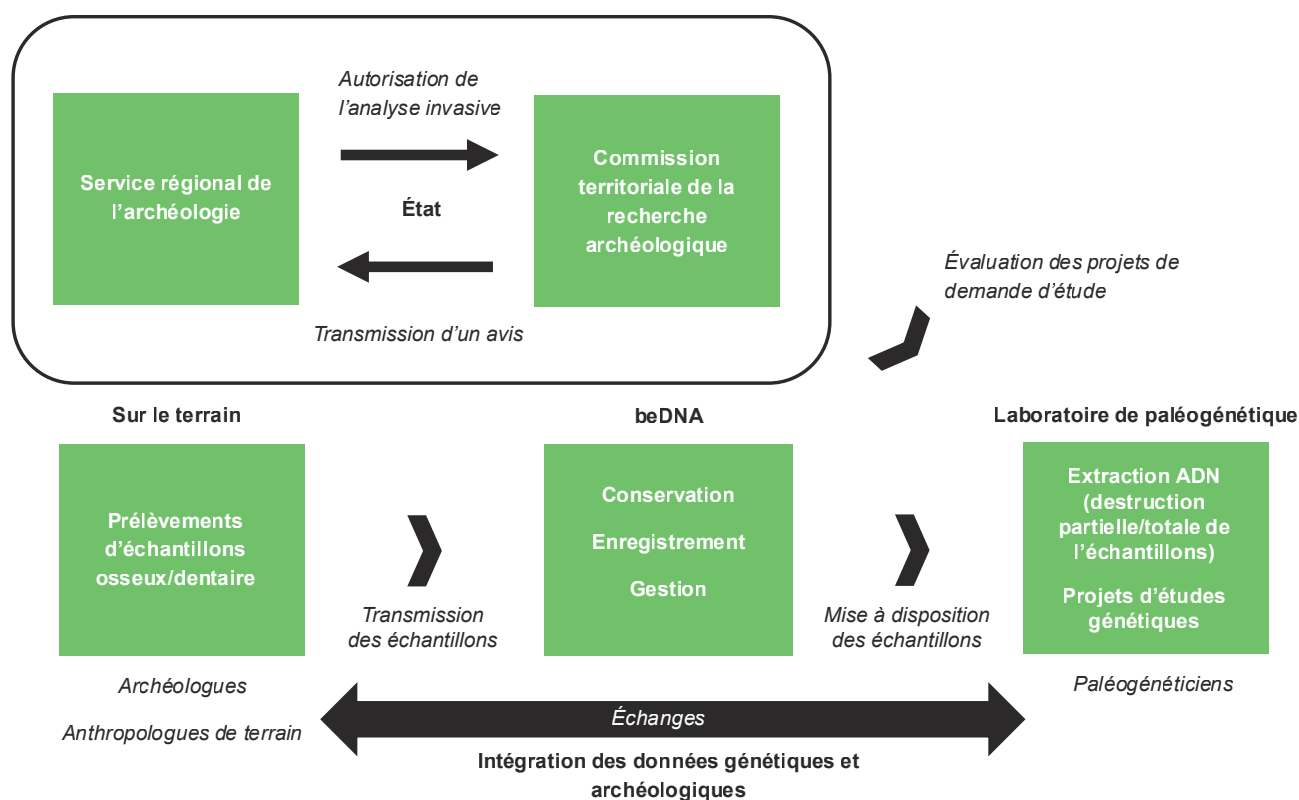


Figure 1. Parcours d'un échantillon du terrain au laboratoire de paléogénétique via la banque beDNA / Process for the transfer of an archaeological sample from the field to the palaeogenetics laboratory via the beDNA project

sont pas conservés, un autre échantillon osseux sera alors choisi, le patrimoine génétique étant le même dans tous les tissus. Pour favoriser les chances d'obtenir un ADN bien préservé, un fragment avec une forte densité de substance compacte, ou un os court complet, comme une phalange, apparaissent comme les meilleures alternatives. Les échantillons ne concernent que le matériel osseux ou dentaire humain, sans tissu mou. Ceux issus de crémation sont également exclus, car l'ADN est *a priori* totalement dégradé par ce traitement (Hansen et al., 2017 ; Mckinnon et al., 2021). Des études paléogénétiques sont parfois prévues en amont des fouilles : dans ce cas, le laboratoire de paléogénétique partenaire prélèvera les échantillons nécessaires selon son propre protocole. Cependant, un échantillon rejoindra la banque beDNA.

Protocole de prélèvement des échantillons sur le terrain

Il convient de limiter au maximum l'impact des manipulations liées au prélèvement des échantillons sur le déroulement des opérations de terrain. Par conséquent, le protocole doit être adapté aux contraintes de la fouille. Celui-ci ne doit également pas entraver la réalisation d'autres études sur les vestiges humains. C'est avec ces objectifs que le

protocole a été mis au point, en discussion étroite avec les anthropologues de terrain qui prennent part à la phase test.

Manipulation des échantillons – L'échantillon doit être isolé le plus tôt possible lors du dégagement des vestiges, au plus tard lors du démontage du squelette (ou des restes osseux isolés). Les manipulations de la pièce osseuse ou dentaire se font dans des règles "d'asepsie" et sans aucun traitement, y compris sans lavage. Le matériel requis lors des manipulations comprend des gants de laboratoire (non poudrés) et un masque. Les pièces osseuses et dentaires sont ensuite insérées dans des sacs en plastique stériles à fermeture zip, associées à des étiquettes imputrescibles pour l'enregistrement des données de l'échantillon. Le matériel nécessaire (non fourni par beDNA) ne grève pas le coût de la fouille. Il représente une trentaine d'euros pour 50 prélèvements d'échantillons (tableau 1).

Gants de laboratoire (non poudrés)	10 €
Sacs en plastique stérile à fermeture zip	2-8 €
Masques	10 €

Tableau 1. Budget pour le prélèvement sur le terrain de 50 prélèvements d'échantillons / Field sampling budget for 50 samples

Enregistrement des données – Les informations essentielles (site, année, unité d'enregistrement (UE, c'est-à-dire un code permettant de désigner de manière unique une unité stratigraphique, un fait, une structure, ...), nature de l'échantillon) sont inscrites sur les sacs à fermeture zip et les étiquettes imputrescibles. Les deux échantillons, conservés dans deux sacs, sont ensuite regroupés dans un nouveau sac qui correspond à l'individu. À nouveau, les informations essentielles sont répétées (site, année et UE) et y est glissée la fiche de prélèvement (figure 2) qui récapitule toutes les informations connues sur l'individu. Une photographie peut être faite avant et après l'échantillonnage et ajoutée au rapport de fouille. La fiche de prélèvement des échantillons est disponible sous forme papier ou dématérialisée².

Conservation des échantillons sur le terrain – Le temps de la fouille, les échantillons sont stockés dans un espace frais, à température constante et à l'abri du soleil. Il convient d'éviter le stockage à des températures extrêmes (réfrigérateurs, congélateurs, conteneurs en plein soleil) et les écarts de température importants par rapport à la condition finale de conservation (18-20 °C).

Transmission des échantillons à la banque beDNA – La transmission des échantillons se fait à la fin des fouilles ou, pour les sites de plus grande ampleur, dès que 100 individus ont été prélevés. Le responsable d'opération prend contact avec le référent beDNA afin de décider des modalités de transfert. Une fiche de transfert² (papier ou dématérialisée) est signée par le responsable d'opération et le référent beDNA et conservée au sein de la banque. Des copies sont transmises au SRA et au responsable d'opération. Une liste des échantillons² y sera associée et pourra être incluse dans le rapport de fouille. À l'issue de l'étude post-fouille, afin d'améliorer la contextualisation des échantillons, un tableau dématérialisé² complétant les informations de la fiche de prélèvement (p. ex. le numéro d'inventaire définitif au format SRA, classe d'âge, sexe, pathologie, présence de mobilier) est envoyé au référent beDNA. Ce dernier réceptionne ensuite le rapport de fouille transmis par le SRA, afin de l'annexer dans la base de données.

Conservation des échantillons dans la banque beDNA

Les échantillons arrivant dans la banque beDNA sont stockés dans des conditions propices à la conservation de l'ADN, c'est-à-dire à température fraîche et hygrométrie constantes et contrôlées, sans variation importante de température. Pour la phase d'expérimentation, et grâce à la convention SRA-MNHN, un espace adéquat a été dédié au projet au sein du Musée de l'Homme (Paris), avec une

température comprise entre 18 °C et 20 °C et une hygrométrie autour de 45-55 % maintenues via une climatisation. L'espace alloué au projet est un espace sécurisé avec un accès par carte (autorisé aux seuls gestionnaires des collections du Musée de l'Homme) contenant quatre armoires fermées par clé (conservé par le référent beDNA). Ces armoires vont permettre de conserver environ 20 000 échantillons dans des caisses, ce qui permettra de couvrir sans difficulté la phase de test du projet sur la région Île-de-France.

Base de données

La base de données associée à la banque d'échantillons indique aux chercheurs intéressés par la nature et les caractéristiques des échantillons, et grâce à de possibles associations d'échantillons provenant de différents sites, périodes ou cultures, elle offre également la possibilité d'études intégratives (p. ex. évolution de traits phénotypiques ou de paléopathologie), en fonction des questions scientifiques qui se poseront dans le futur, ou des outils d'analyse qui seront disponibles.

La base de données comprend des informations archéologiques et biologiques : identification et localisation de l'opération ; identification et description de l'échantillon (contexte matériel et chrono-culturel, auteur du prélèvement) ; données d'étude post-fouille (sexe, âge, pathologie, etc.) ; résultats des études paléogénétiques (soit directement dans la base de données ou par le biais de liens vers des bases de données en ligne, p. ex. ENA/GenBank). Les informations de la base de données deviennent disponibles à tous, au fur et à mesure que les données seront publiques (clôture de l'opération archéologique après le rendu du rapport, ou publication d'articles scientifiques).

Transmission des échantillons aux laboratoires de paléogénétique

Cette phase du projet beDNA n'a pas encore été testée et les modalités concernant les demandes d'analyses génétiques sur les échantillons conservés dans la banque beDNA seront modulées et adaptées aux règles qui seront édictées par le ministère de la Culture, à l'issue des travaux du groupe de travail Paohce. Un guide aux usagers de la banque beDNA détaillera tout le processus de soumission et d'étude des demandes, l'avis des Commissions territoriales de la recherche archéologique (CTRA), le choix des échantillons, les critères d'évaluation des demandes, les modalités d'utilisation (et éventuellement de retour) des échantillons. Ce guide sera disponible sur le site de l'UMR 7206.

Après la clôture de l'opération archéologique, les échantillons pourront faire l'objet d'une demande d'accès par les laboratoires de paléogénétique et par les chercheurs et archéologues porteurs de projets, sitôt l'accord obtenu par le SRA sur avis de la CTRA, qui évalue les volets scientifique (intérêt de la problématique, caractère synthétique et global de l'étude, etc.) et technique (analyses adaptées pour

2 Disponible sur la page web du projet beDNA : <https://www.ecoanthropologie.fr/fr/bedna-une-banque-dechantillons-pour-les-analyses-futures-9125>.

Fiche prélèvement beDNA (à associer avec le prélèvement)

Nature et références de l'opération (à remplir avant impression)

N°OA : Année : Type d'opération :
 Organisme de rattachement : SRA associé : Île-de-France
 Responsable d'opération : Anthropologue :

Localisation (à remplir avant impression)

Adresse ou lieu-dit de l'opération :

Commune :

Département :

Identification des échantillons (à remplir lors du prélèvement)

Échantillons (date JJ/MM/AA : / /)

Identifiant unité enregistrement (UE)	Datation estimée	UE prélevée en relation avec d'autres UE ? (Sépulture multiple, collective, réduction, ...)		Position du squelette	État de conservation du squelette		Nom et prénom COMPLET de l'auteur du prélèvement
		Oui	Non		Complet		
		Si oui, préciser UE et nature			Incomplet		Autres manipulateurs (nom, prénom)
					Restes isolés		
Type d'échantillon 1	Type de la dent 1		Latéralisation de l'os ou dent 1		État de l'échantillon 1		
Partie pétreuse de l'os temporal	Incisive		Gauche		Stable		
	Canine						
Dent	Prémolaire		Droite		Instable		
	Molaire						
Autre échantillon osseux	Précision (ex : M2) :		Inférieure		Critique		
	Précisions autre échantillon osseux 1 :						
Type d'échantillon 2	Type de la dent 2		Latéralisation de l'os ou dent 2		État de l'échantillon 2		
Partie pétreuse de l'os temporal	Incisive		Gauche		Stable		
	Canine						
Dent	Prémolaire		Droite		Instable		
	Molaire						
Autre échantillon osseux	Précision (ex : M2) :		Inférieure		Critique		
	Précisions autre échantillon osseux 2 :						

Remarques supplémentaires (sexe, classe âge, pathologie(s), présence mobiliers, problèmes éventuels lors du prélèvement) :

Figure 2. Fiche de prélèvement des échantillons sur le terrain du projet beDNA / Sampling sheet for the beDNA project



Figure 3. Exemples de prélèvements d'échantillons réalisés sur le terrain, fiche d'enregistrement et conditionnement (Crédits photos 1 et 2 – Sophie Lafosse. Photographies prises avec l'autorisation de la responsable d'opération Aurélie Mayer ; Crédits photo 3 - Jean-Gabriel Pariat. Photographies diffusées avec l'autorisation de la responsable d'opération Aurélie Alligri) / *Examples of archaeological sampling in the field, sampling sheet and packaging (Photo credits 1 and 2 - Sophie Lafosse. Photographs taken with the authorization of the operation manager Aurélie Mayer; Photo credits 3 - Jean-Gabriel Pariat. Photographs released with the permission of the operation manager Aurélie Alligri)*

extraction ADN, exploitation de l'ADN et des résultats) du projet (figure 1)³. Si un projet d'analyse souhaite inclure des échantillons de beDNA alors que l'opération dont ils sont issus est toujours en cours, l'accord du responsable d'opération est un préalable à tout examen par les services de l'État.

Une fois tous les accords obtenus, une lettre d'agrément spécifiant les obligations des chercheurs doit être signée par le responsable du projet scientifique et le référent de la banque beDNA. Par cette lettre, le responsable du projet s'engage à respecter les différentes consignes concernant les échantillons conservés dans la banque.

Une sauvegarde des données morphologiques, par le biais d'une couverture photographique adaptée, sera nécessaire avant la destruction (partielle ou totale) d'un échantillon conservé dans la banque beDNA. Enfin, suite à l'analyse génétique, tous les échantillons non utilisés ou partiellement détruits seront rendus à la banque dans un délai de 12 mois après la fin des analyses.

Phase expérimentale : du terrain à la banque beDNA

Les premiers échantillons

La phase test actuelle du projet beDNA se déroule uniquement sur la région Île-de-France, et est prévue pour durer jusqu'en 2025. Elle a pour objectif de mettre en place, tester

et améliorer le fonctionnement de la banque, depuis la réalisation des prélèvements sur le terrain jusqu'à leur transfert aux laboratoires de génétique. Les premières étapes du parcours (du terrain à la banque, et l'inclusion des informations dans la base de données) ont pu être expérimentées.

Au mois d'août 2022, la base de données beDNA comptait 160 individus prélevés soit un total de 276 échantillons, répartis sur douze sites archéologiques (Tremblay-en-France, Marly-la-Ville, Bondoufle, Saint-Maur-des-Fossés, Bouqueval, Vitry-sur-Seine, Ivry-sur-Seine, Hermé, Bobigny, Meaux, Noisy-le-Grand et Villeneuve-Saint-George).

Sur le site de Tremblay-en-France, fouillé par Éveha (Études et valorisations archéologiques), deux membres de l'équipe beDNA se sont déplacés sur le terrain pendant une semaine (figure 3). Nous avons, dans un premier temps, effectué des prélèvements d'échantillons afin de tester nous-même le protocole et la fiche de prélèvement, avant de laisser la main aux anthropologues qui ont ensuite continué de façon autonome jusqu'à la fin de la fouille. En tout, 35 individus ont été prélevés pour un total de 61 échantillons : pour 10 d'entre eux, la préservation du squelette n'a permis le prélèvement que d'un seul échantillon et une sépulture multiple a été prélevée trois fois.

Sur le site de Marly-la-Ville, fouillé par le Service départemental d'archéologie du Val-d'Oise (SDAVO), les prélèvements ont été faits en autonomie par l'anthropologue pendant toute la durée du terrain, avec un contact régulier avec l'équipe beDNA (figure 3). Dix individus ont été prélevés pour un total de 20 échantillons.

Ces premières expériences nous ont permis d'évaluer, en concertation avec les anthropologues de terrain, les stratégies de prélèvement *in situ*, et d'ajuster les modalités de transfert des échantillons à la banque beDNA. Nous avons ainsi pu adapter aux contraintes réelles du terrain la fiche

³ Les modalités d'évaluation des projets par le SRA (qui pourra être positif, négatif ou conditionnel dans l'attente de financement) sont en cours de discussion à la date du 12 octobre 2022 : ce point est fixé réglementairement par le ministère de la Culture après la fin des travaux du groupe de travail Paohce.

de prélèvement des échantillons et les moyens techniques de conditionnement. Sur demande des anthropologues, nous avons mis à disposition cette fiche au format numérique et avons ajouté une liste finale des échantillons. Au-delà du protocole ainsi établi, les anthropologues et le responsable d'opération conservent une marge de manœuvre leur permettant de s'adapter à la réalité de leur terrain.

En 2021, des échantillons ont été faits sur 6 autres sites : Bondoufle, Saint-Maur-des-Fossés, Bouqueval, Vitry-sur-Seine, Ivry-sur-Seine et Hermé, avec le protocole actualisé. Au total, nous avons accueilli dans la banque beDNA 103 nouveaux échantillons. Dans la majorité des cas, les échantillons ont été prélevés en autonomie par les anthropologues ou le responsable d'opération. Nous nous sommes déplacés sur deux sites, Saint-Maur-des-Fossés et Bondoufle, afin de proposer une formation d'accompagnement selon les besoins et les demandes des professionnels du terrain.

Retours d'expériences

À l'issue de ces diverses opérations, un bilan a été dressé avec les responsables d'opération et les anthropologues des sites de Tremblay-en-France, Marly-la-Ville, Saint-Maur-des-Fossés et Vitry-sur-Seine, afin d'assurer la meilleure adaptation du projet beDNA à la réalité opérationnelle de l'archéologie (surtout préventive), pour un objectif de contrainte minimum sur le terrain. La phase test a montré que les prélèvements sur le terrain sont assez rapides à effectuer (moins de 15 minutes et ce temps diminue avec l'expérience) et que le protocole est simple à suivre.

Ces retours d'expérience ont aussi mis en lumière des difficultés à surmonter. La réalisation des prélèvements ajoute un coût opérationnel supplémentaire (temps-homme, documents à remplir). Depuis septembre 2021, le protocole du projet beDNA a été ajouté au protocole de conservation du SRA Île-de-France : le coût des manipulations liées aux prélèvements, en particulier en jours/homme, qui peut se chiffrer en heures, voire en jours pour les nécropoles de grande ampleur, est maintenant clairement identifié dans le devis. Une autre difficulté fréquemment soulevée concerne la perte potentielle d'information liée à la séparation d'éléments du reste du squelette. Il n'est pas envisageable que la facilitation d'une étude (paléogénétique) en handicape une autre (anthropologique). Le prélèvement est logiquement adapté aux conditions de gisements : fragmenter un bloc crânio-facial entier pour recueillir le massif pétreux n'est pas une solution, isoler une dent sans s'être assuré que la symétrique est présente et possède des caractères identiques non plus. Un autre fragment peut être substitué sur le terrain pour ces cas particuliers, à l'appréciation des anthropologues et responsables d'opération. Également, des photographies peuvent être effectuées ponctuellement sur demande du responsable d'opération après intégration de l'échantillon dans la banque beDNA.

À court terme, il s'agira donc d'optimiser le processus du terrain à la banque. Nous avons pu constater que les différents services archéologiques impliqués dans le projet

commencent à être autonomes sur les prélèvements, le principe du projet beDNA est efficace même sans déplacement direct de son référent sur le terrain. La réalisation de nouveaux prélèvements permettra de tester une gamme large de contextes où apparaissent des restes humains (cimetières "classiques", tombes isolées, sépultures collectives, restes humains épars en contexte funéraire ou non, diagnostics, etc.). Enfin, d'ici la fin de la phase test, nous souhaitons que toutes les étapes, allant jusqu'à la mise à disposition des échantillons aux laboratoires de paléogénétique, aient pu être testées.

Conclusion

La participation effective des différents acteurs de l'archéologie et de la paléogénétique est centrale pour le projet. En effet, si l'objectif premier du projet beDNA est de faciliter les études paléogénétiques et leurs applications en archéologie, nous espérons qu'il permette aux acteurs de l'archéologie (opérateurs, responsables d'opération, archéologues, anthropologues, etc.) d'être parties prenantes, sinon moteurs, des problématiques liées aux études paléogénétiques. Afin de répondre aux objectifs fixés par le projet, et de moduler les protocoles en fonction des contraintes courantes, la poursuite et l'achèvement de la phase de test en Île-de-France sont essentiels. Un comité scientifique accompagnera le projet pour les cinq prochaines années, et en évaluera les résultats avec le ministère de la Culture. Après cette phase initiale, l'ambition du projet est ensuite de s'étendre à toute la France, amenant ainsi de nouveaux questionnements quant à l'adaptation de la banque à un afflux croissant d'échantillons, à la problématique d'acheminement des échantillons et à sa capacité de répondre aux problématiques scientifiques de tous les chercheurs. Les contraintes respectives d'une banque unique ou de banques régionales devront dans ce cadre être évaluées et confrontées.

Le projet beDNA est un outil que nous souhaitons mettre à la disposition de toute la communauté scientifique liée à l'archéologie, et un pari sur l'avenir : un pari sur le caractère indispensable, à terme, des études paléogénétiques en archéologie, un pari sur nos capacités à s'organiser pour préserver et optimiser une ressource par essence irremplaçable.

Remerciements

Le ministère de la Culture nous a permis de lancer cette phase de test et le SRA Île-de-France s'est fortement impliqué dans le projet. Un contrat d'ingénieur indispensable à l'engagement du projet est financé par le ministère de la Culture, le CNRS et le MNHN. Le MNHN accueille le projet beDNA dans ses locaux du Musée de l'Homme.

Ce projet a bénéficié des conseils et de l'aide d'un très grand nombre de personnes, en particulier les archéologues et anthropologues exerçant dans la région Île-de-France. Les différents organismes et institutions contactées en Île-de-France ont tous montré leur intérêt

pour le projet. Nous remercions les responsables d'opération et anthropologues qui ont "essuyé les plâtres" de la phase test avec enthousiasme : Aurélie Mayer, Morgane Decofour et Anaïs Lebrun (Éveha), Aurélie Alligri, Jean-Gabriel Pariat, Céline Gillain et Elisabeth Tribouillard (SDAVO), Vanessa Bayard (Laboratoire d'Archéologie Départemental du Val-de-Marne), Ivan Lafarge (Bureau du patrimoine archéologique de la Seine-Saint-Denis), l'association Archéologie des Nécropoles, l'association La Riobé. Nous remercions également les anthropologues et responsable d'opérations de l'INRAP : Cécile Buquet, Jeremy Couderc, Olivier Royer-Perez, Paulette Lawrence-Dubovac, Maxime Aubier, Isabelle Abadie, Laure Pecqueur, Anne-Gaëlle de Kepper, Cyrille Le Forestier, Franck Mallet, Arnaud Prié, Christelle Seng, Vanessa Rouppert.

Le projet beDNA bénéficie du support financier du laboratoire Éco-Anthropologie, et de son soutien moral et scientifique.

Références

- Allen Ancient DNA Resource (2021), version 52.2, <https://reich.hms.harvard.edu/allen-ancient-dna-resource-aadr-downloadable-genotypes-present-day-and-ancient-dna-data> (consulté le 11 août 2022)
- Allentoft ME, Collins M, Harker D et al (2012) The half-life of DNA in bone: measuring decay kinetics in 158 dated fossils. *Proceedings of the Royal Society B* 279:4724-4733 [<https://doi.org/10.1098/rspb.2012.1745>]
- Dabney J, Meyer M, Pääbo S (2013) Ancient DNA Damage. *Cold Spring Harbor Laboratory Press* 5:a012567 [<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012567>]
- Ghesquière E, Chambon P, Flotté D et al (2019) Fleury-sur-Orne "les Hauts de l'Orne", nécropole néolithique. Rapport final d'opération. Inrap Grand-Ouest, Cesson-Sévigné
- Hansen HB, Damgaard PB, Margaryan A et al (2017) Comparing ancient DNA preservation in petrous bone and tooth cementum. *PLoS ONE* 12(1):e0170940 [<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170940>]
- Higuchi R, Bowman B, Freiberger M et al (1984) DNA sequences from the quagga, an extinct member of the horse family. *Nature* 312:282-284 [<https://doi.org/10.1038/312282a0>]
- Hofreiter M, Serre D, Poinar HN et al (2001) Ancient DNA. *Nature Reviews Genetics* 2(5):353-9 [<https://doi.org/10.1038/35072071>]
- Margaryan A, Hansen HB, Rasmussen S et al (2018) Ancient pathogen DNA in human teeth and petrous bones. *Ecology and Evolution* 8(6):3534-3542 [<https://doi.org/10.1002/ece3.3924>]
- Mckinnon M, Henneberg M, Higgins D (2021) A review of the current understanding of burned bone as a source of DNA for human identification. *Science & Justice* 61:332-338 [<https://doi.org/10.1016/j.scijus.2021.03.006>]
- Parker C, Rohrlach AB, Friederich S et al (2020) A systematic investigation of human DNA preservation in medieval skeletons. *Scientific Reports* 10:18225 [<https://doi.org/10.1038/s41598-020-75163-w>]
- Pilli E, Modi A, Serpico C et al (2013) Monitoring DNA contamination in handled vs. directly excavated ancient human skeletal remains. *PLoS ONE* 8(1):e52524 [<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052524>]
- Pinhasi R, Fernandes DM, Sirak K et al. (2019) Isolating the human cochlea to generate bone powder for ancient DNA analysis. *Nature Protocols* 14:1194-1205 [<https://doi.org/10.1038/s41596-019-0137-7>]
- Pruvost M, Schwarz R, Correia VB et al (2006) Freshly excavated fossil bones are best for amplification of ancient DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 104(3):739-744 [<https://doi.org/10.1073/pnas.0610257104>]
- Rivollat M, Thomas A, Ghesquière E et al (2022) Ancient DNA gives new insights into a Norman Neolithic monumental cemetery dedicated to male elites. *Proc Natl Acad Sci USA* 119(18):e2120786119 [<https://doi.org/10.1073/pnas.2120786119>]
- Serre D, Hofreiter M, Pääbo S (2004) Mutations induced by ancient DNA extract? *Molecular Biology and Evolution* 21:1463-1467 [<https://doi.org/10.1093/molbev/msh139>]
- van der Valk T, Pečnerová P, Díez-del-Molino D et al (2021) Million-year-old DNA sheds light on the genomic history of mammoths. *Nature* 591:265-269 [<https://doi.org/10.1038/s41586-021-03224-9>]
- Weiß CL, Schuenemann VJ, Devos J et al (2016) Temporal patterns of damage and decay kinetics of DNA retrieved from plant herbarium specimens. *Royal Society Open Science* 3:160239 [<http://dx.doi.org/10.1098/rsos.160239>]
- Willerslev E, Cooper A (2005) Review paper. Ancient DNA. *Proceedings of the Royal Society B* 272:3-16 [<https://doi.org/10.1098/rspb.2004.2813>]



BMSAP

Bulletins et Mémoires de la Société d'Anthropologie de Paris