

Gilbert Greub¹

Sur les traces d'Hannibal

En 218 avant J.-C., Hannibal de Carthage était à la tête de l'armée punique et a envahi l'Italie à partir du bassin du Rhône en traversant les Alpes avec des milliers de chevaux, beaucoup d'éléphants et un nombre considérable de soldats (réf. 1). Cependant, la route qu'a empruntée Hannibal de Carthage reste peu claire.

Le col de la Traversette

Certains historiens ont suggéré qu'Hannibal est passé par la Suisse au niveau du col du St-Bernard. Le col du Mont-Cenis ou le col Clapier ont également été envisagés. D'autres historiens ont considérés qu'Hannibal aurait pu traverser le col au niveau de la Traversette, qui est un col de relativement basse altitude (~2800 m). Des indices historiques sont compatibles avec cette hypothèse, dont notamment (i) la notion qu'Hannibal n'avait que peu de temps pour traverser les Alpes avant l'hiver et ne serait donc pas passé trop au nord, (ii) que ses soldats ont bivouaqué près du col sur un sol gelé et (iii) que des chutes de pierres obstruaient partiellement leur chemin, limitant l'avancement de l'armée d'Hannibal (1). Dans un article que je résume ci-dessous, Mahaney et ses collègues ont identifié une large zone relativement plate et herbeuse, 425 mètres au-dessous du col de la Traversette. Cette zone herbeuse permettait de nourrir les chevaux. De plus, cet endroit comptait aussi un vaste point d'eau pour abreuver les soldats, les chevaux et les éléphants.

Analyse du sol et analyses métagénomiques

Mahaney et ses collaborateurs ont prélevés des échantillons du sol à différentes profondeurs (chaque 10 cm de 5 à 55 cm de profondeur). Ces échantillons ont été datés au carbone 14, et la période correspondant à la traversée des Alpes par l'armée d'Hannibal de Carthage, 218 années avant J.-C., correspondait à environ 40 cm de profondeur. Une analyse plus poussée a montré un pic d'acide désoxycholique à 40 cm de profondeur (compatible

avec une abondance de matière fécale puisque cet acide biliaire se retrouve dans les selles des mammifères). De plus, entre 40 et 50 cm de profondeur, les analyses effectuées par Mahaney et collaborateurs démontraient également un pic de certains pollens de plantes inhabituelles à cette altitude (*Cyperaceae*), pic qui pourrait s'expliquer par le fait que de nombreux chevaux ont brouté des herbes chargées de pollen, entraînant une certaine accumulation de pollen à l'endroit où ces équidés ont déféqué.

Afin de confirmer leur hypothèse, Mahaney et collaborateurs ont effectué des analyses de métagénomique au niveau des différents échantillons de sol. A nouveau, un pic significatif de firmicutes et de *clostridia* fut observé dans la carotte présente entre 40 et 45 cm de profondeur. Les firmicutes se trouvaient également en quantité significative dans les zones plus profondes.

Interprétation des résultats

La présence à la fois de taux élevé de biomarqueurs fécaux (acide désoxycholique) et l'abondance de gènes codant pour l'ARN 16S des bactéries de la classe des *Clostridia* suggère que les sédiments étudiés par Mahaney et ses collaborateurs contenaient effectivement une large quantité de matière fécale environ 40 cm sous terre. C'est un excellent exemple d'une analyse de microbiologie qui permet d'appuyer des hypothèses basées sur des faits historiques et sur des analyses d'autres biomarqueurs.

Cependant, cet article mérite quelques commentaires. Tout d'abord, avec les années, l'ADN peut se dégrader considérablement, ce qui peut expliquer la forte proportion d'ADN de firmicutes et de bactéroïdes dans les couches profondes (entre 40 et 55 cm). Il aurait pu être intéressant de faire cette analyse du microbiote avec plusieurs



Figure 1. Caricature de la mode actuelle d'analyser le «microbiote des selles». Outre une critique du «tout métagénomique», cette caricature de Debra Bühlmann souligne à la fois l'opportunité offerte par les matières fécales comme approximation de la composition microbienne au niveau intestinal et l'importance d'utiliser sur certains échantillons précieux d'autres techniques d'investigation microbiologiques, dont la microscopie ou la culturomique.

¹ Institut de microbiologie, Université de Lausanne et Centre hospitalier universitaire vaudois (CHUV), Bugnon 48, 1011 Lausanne



types d'extractions différents, ainsi qu'avec une approche extrayant spécifiquement l'ADN de bactéries sporulées, afin de pouvoir préciser la robustesse de ces résultats d'analyses de microbiote dans les sédiments. D'autre part, l'analyse de fragments courts du gène 16S ne permet pas d'identifier les bactéries au niveau de l'espèce, voire même au niveau du genre. Ainsi, bien qu'il est probable que l'hypothèse des auteurs soit correcte et que ces clostridies soient en effet des bactéries d'origine digestive et du genre *Clostridium*, de nombreuses bactéries de la famille des *Clostridiaceae* ne sont pas forcément associées au tractus digestifs des mammifères et pourraient s'être accumulées à ce niveau pour d'autres raisons.

Comme le montre le tableau 1, la famille des *Clostridiaceae* comprend de nombreux genres bactériens. De plus, la présence de la famille des *Clostridiaceae* ne donne pas de certitude quant à l'origine fécale de ces bactéries, puisque certains membres du genre *Clostridium* (tel que *Clostridium tetanii*) sont des germes telluriques. Au vu de la masse d'analyses effectuées dans ce projet, ainsi que de l'intérêt des historiens et du grand public pour cette thématique, il est dommage que les analyses microbiologiques n'aient

pas inclus des gènes plus discriminants (*gltA*, *rpoB*, ...) afin de préciser au niveau du genre et de l'espèce les bactéries retrouvées à cet endroit, à 40 cm de profondeur. D'autre part, il aurait été intéressant que l'analyse métagénomique présentée dans cet article ne se limite pas à une analyse taxonomique basée sur le 16S mais qu'elle présente également une analyse de la proportion des bactéries présentes aux différentes couches selon (i) leur écologie (bactéries du tube digestif des mammifères ou bactéries du sol) et (ii) leur rapport à leurs relations à l'oxygène (bactéries anaérobies ou non). Enfin, il aurait pu être intéressant de décrire le microbiote retrouvé à 40 cm de profondeur par rapport à ses compétences biochimiques globales (résistance aux sels biliaires, capacité de fermentation, présence de catalase, de superoxyde dismutase, d'uréase, ...). Ainsi une analyse de métagénomique shotgun de ces échantillons aurait été particulièrement intéressante.

Conclusion

Pour conclure, l'étude de Mahaney et collaborateurs, passionnante en termes d'archéométrie et d'impact historique, aurait bénéficié du regard d'un microbiologiste. De manière plus générale, cet article est un bon exemple d'une

analyse du microbiote effectuée par des spécialistes d'une autre discipline, qui rapportent leurs données (i) sans une connaissance poussée des limites des méthodes appliquées (par exemple, les effets majeurs des bases de données, des pipelines bio-informatiques utilisées et des méthodes d'extraction telles que décrites par Greub, Rosikiewicz et Bertelli dans un autre article de ce numéro spécial [2]), (ii) parfois sans s'associer avec des microbiologistes et (iii) par conséquent sans essayer de comprendre ces communautés microbiennes également en termes écologique et métabolique.

A l'avenir, les nouvelles techniques de séquençage à haut débit offrent des opportunités uniques à la communauté des microbiologistes, mais il est important que les chercheurs de tous azimuts qui courent derrière le nouveau «grail», l'analyse des selles par séquençage à haut débit (Figure 1), soient aidés de microbiologistes, afin de tirer le meilleur parti d'échantillons souvent précieux.

Correspondance
Gilbert.Greub@chuv.ch

Clostridiaceae

Alkaliphilus	Hathewayia
Anaerosalibacter	Hungatella
Anaerosolibacter	Keratinibaculum
Anoxynatronum	Lactonifactor
Brassicibacter	Linmingia
Butyricococcus	Lutispora
Caldanaerocella	Natronincola
Caldisalibacter	Oceanirhabdus
Caloramator	Oxobacter
Caloranaerobacter	Proteiniclasticum
Caminicella	Salimesophilobacter
Candidatus Arthromitus	Sarcina
Cellulosibacter	Sporosalibacterium
Clostridiisalibacter	Thermobrachium
Clostridium	Thermohalobacter
Fervidicella	Thermotalea
Fonticella	Tindallia
Geosporobacter	Youngiibacter
Haloimpatiens	unclassified Clostridiaceae

www.ncbi.org

Tableau 1. Membres de la famille des *Clostridiaceae*. Notez la grande biodiversité qui inclut des espèces telluriques (sol), des espèces associées à des environnements aquatiques et des espèces typiquement associées à la flore fécale. Liste obtenue du site «taxonomy» du NCBI.

References

1. W. C. Mahaney, C. C. R. Allen, P. Pentlavalli, A. Kulakova, J. M. Young, R. W. Dirszowsky, A. West, B. Kelleher, S. Jordan, C. Pulleyblank, S. O'Reilly, B. T. Murphy, K. Lasberg, P. Somelar, M. Garneau, S. A. Finkelstein, M. K. Sobol, V. Kalm, P. J. M. Costa, R. G. V. Hancock, K. M. Hart, P. Tricart, R. W. Barendregt, T. E. Bunch, M. W. Milner. Biostratigraphic Evidence Relating to the Age Old Question of Hannibal's Invasion of Italy, II: Chemical Biomarkers and Microbial Signatures. *Archaeometry* 2017; 59 (1): 179–190.
2. Greub G, Rosikiewicz M et Bertelli C. Analyse du microbiote dans un laboratoire diagnostic: définition, application et aspect qualité. *Pipettes* 2018, november, this issue.