

# THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'INSTITUT AGRO MONTPELLIER

En Ecologie de la santé

École doctorale GAIA

Unité de recherche - Centre de Biologie pour la Gestion des Populations

## IMPACT DE L'ANTHROPISATION SUR LES LIENS ENTRE LES COMMUNAUTÉS DE PETITS MAMMIFÈRES, LEUR MICROBIOTE ET LES DANGERS ZONOTIQUES

Présentée par Marie BOUILLOUD

Le 31 octobre 2023

Sous la direction de Nathalie CHARBONNEL  
et Benjamin ROCHE

Devant le jury composé de

Jessica METCALF, Professeure associée, Université Princeton

Gabriele SORCI, Directeur de recherche, CNRS

Julien Cappelle, Ecologue, CIRAD

Muriel DIETRICH, Chargée de recherche, IRD

Philippe GERARD, Directeur de recherche, INRAE

Nathalie CHARBONNEL, Directrice de recherche, INRAE

Benjamin ROCHE, Directeur de recherche, IRD

Rapporteuse

Rapporteur

Examineur

Examinatrice

Examineur

Directrice de thèse

Directeur de thèse



## Avant-propos

Cette thèse a été conduite du 1<sup>er</sup> juillet 2020 au 31 novembre 2023 au sein de l'UMR 1062 (centre de Biologie pour la Gestion des Populations, tutelles INRAE & IRD) sous la co-direction de Nathalie Charbonnel (INRAE) et Benjamin Roche (IRD) et a bénéficié d'un financement Agence Nationale de la recherche (ANR), Biodiversa, [BioRodDis](#).



Le manuscrit se présente en 4 chapitres, rassemblant plusieurs articles en phase de préparation, soumis ou publiés dont la liste est résumée dans la partie « Liste des publications et communications orales » page 7 & 8.

L'ensemble des annexes et des articles se trouvent sur [google drive](#)

## Remerciements

Je devais commencer ma thèse sur les maladies émergentes des rongeurs le 16 mars 2020, mais un nouveau virus a émergé un peu plus vite que prévu et m'a devancé, contraintes alors d'être confiné ce même jour et de finalement commencer le 1er juillet. Ces petites péripéties semblaient annoncer le début d'une thèse prometteuse, agrémentée de quelques petites aventures inattendues. Si je devais énumérer quelques-unes : des transports constamment dysfonctionnels (pour tous les trajets sans exception), une forte fièvre contractée après des centaines de dissections de rongeurs transportant un nombre exceptionnel de pathogènes et un gîte douteux, des problèmes administratifs et informatiques, une tempête qui a fait chuter des arbres en plein échantillonnage, ainsi qu'un voyage pour des manipulations en Finlande sans réactifs, même ce manuscrit aura résisté aux flammes qui ont bordé le CBGP ce dimanche et bien d'autres évènements assez improbables... tout comme dans ma vie personnelle tout au long de cette thèse.

Mais celle-ci aura été pour moi une expérience de vie fabuleuse et passionnante, en étant stimulante intellectuellement et enrichissante, me permettant d'élargir mes connaissances et compétences, tout en repoussant parfois mes propres limites. Dans le cadre de cette thèse, j'aurais eu l'opportunité d'aller en Finlande, en Espagne, en Belgique, à Toulouse/Paris/Lyon/Metz, le Jura et le meilleur pour la fin l'Ain, ma région natale... Cela a été rendu possible grâce au projet BioRodDis, aux diverses conférences, ainsi qu'aux nombreuses campagnes de terrain. Mon expérience de thèse aura englobé tout un tas d'activités variées : du terrain, une diversité de manipulations en biologie moléculaire, une utilisation de la bio-informatique et de R (« la vie »), la supervision de 4 stagiaires, une participation active aux activités de laboratoire, notamment les sessions de journal club, l'axe des petits rongeurs et la fête de la science, et des activités de rédaction, lecture et présentation non-négligeables. J'ai même eu l'occasion de participer à un film documentaire, d'explorer les coulisses d'un zoo, et de rencontrer les peuples chamans du Jura...

Mais surtout, si j'ai finalement apprécié l'expérience de la thèse, c'est en grande partie, voire indubitablement, grâce à l'ambiance chaleureuse qui prévaut au quotidien au CBGP, en compagnie de personnes remarquables, d'encadrants toujours disponibles et empathiques, ainsi que de proches qui ont joué un rôle de soutien plus qu'extraordinaire. C'est pourquoi je tiens à vous remercier.

Je tiens tout d'abord à exprimer ma gratitude envers les membres du jury (**Jessica Metcalf, Gabriele Sorci, Julien Cappelle, Muriel Dietrich et Philippe Gerard**) qui ont accepté de faire partie du jury de ma thèse. Je vous remercie pour le temps que vous consacrerez à la lecture et l'évaluation de ce manuscrit plutôt long (excusez-moi), tout en espérant que vous y découvrirez de nouvelles connaissances, notamment grâce à la présentation d'un point de vue différent de celui habituellement exposé sur les zoonoses. Je vous remercie pour l'expertise que vous pourrez apporter et je suis impatiente de pouvoir discuter de ces approches avec vous, aussi bien lors de la soutenance que dans le cadre de futures discussions.

Je souhaite également remercier les membres des comités de suivi de thèse (**Gwenael Vourc'h, Eve Miguel, Gauthier Dobigny, Carine Brouat, Philippe Gerard et Rodolphe Golzan**), qu'ils aient participé une fois voir aux trois comités. Leurs conseils éclairés ont enrichi mon projet en apportant de nombreuses perspectives de réflexion. Je tiens à les remercier non seulement pour leur expertise, mais aussi pour leur bienveillance et le temps précieux qu'ils ont consacré à cette démarche.



Il est souvent dit que la qualité de l'encadrement joue un rôle essentiel dans le bon déroulement d'une thèse, et je suis désormais pleinement convaincue de la véracité de cette affirmation !

Un énorme merci à **Nathalie** ! Je me souviens encore de ton regard lors de notre première mission sur le terrain, qui semblait dire : "Sur qui sommes-nous tombés ?!". C'était à ce moment-là que j'avais malencontreusement encastré ma voiture sur un gros rondin de bois. Je tiens à te remercier d'avoir continué à croire en moi et à me faire confiance, malgré mes maladresses. Ces missions sur le terrain nous ont permis de mieux nous connaître, ce qui a grandement favorisé nos échanges. Ton empathie m'a permis de mener ma thèse sereinement, en étant moi-même, avec mes imperfections, mon stress et mes idées farfelues, parfois difficiles à cadrées. Je te remercie sincèrement pour ta patience et ta bienveillance absolue.

Tu as également été une mentore tant sur le plan intellectuel que méthodologique. Tes critiques étaient toujours constructives, dans le seul but de guider ma progression. Tu étais disponible en tout temps, et tes conseils étaient toujours pertinents. Tu as été un modèle d'exigence et de rigueur, des qualités qui m'ont beaucoup apporté et qui sont sans aucun doute la clé d'un travail de qualité. Ta maîtrise des techniques sur le terrain, ta guidance dans les méthodologies et objectifs de recherche, ainsi que ton expertise générale, m'ont beaucoup appris et me serviront toute ma vie.

Merci **Benjamin** d'avoir toujours apporté un regard neuf et extérieur à mes travaux. Même lorsque tes domaines d'expertise étaient parfois éloignés des miens, tu as toujours participé activement aux discussions en fournissant des conseils précieux, agrémentés de petites touches d'humour qui ont rendu nos réunions plus agréables. Tu as su aussi toujours relativiser de différentes situations complexes permettant de mieux les appréhender. Ce sont surtout, lors de six derniers mois, où nous avons eu l'opportunité de travailler ensemble. Cette expérience a été extrêmement enrichissante pour moi et a suscité mon intérêt pour la modélisation épidémiologique à l'avenir. En outre, tu as été d'une grande aide pour la correction de mes articles et de mon manuscrit de thèse, ce qui m'a appris également à mieux rédiger.

Je tiens également à saluer votre harmonie dans le travail, vos compétences complémentaires, le tout dans une ambiance toujours chaleureuse. Je conserve de précieux souvenirs de nos moments passés en Belgique où vous m'avez offert une compréhension approfondie du véritable sens de la recherche, au fil de nos discussions tardives autour d'un verre (ou deux). En outre, votre contribution a été précieuse tout au long de mon projet de thèse, et je vous en suis sincèrement reconnaissante.

Merci aux **membres de l'ED GAIA et à SupAgro** pour leur gestion des dossiers administratifs, ainsi qu'à ceux qui ont contribué à ma formation. Un remerciement spécial aux **membres du cercle mentorat femmes et sciences**, en particulier à **Anna**, qui m'ont beaucoup aidé à gagner en confiance en moi et à trouver un meilleur équilibre entre ma vie personnelle et professionnelle.

Je souhaite également remercier tous les **membres du projet BioRodDis** et **tous les collaborateurs** ayant contribué de près ou de loin à mes travaux de thèse. Cela a été un plaisir de pouvoir partager la science avec vous. En particulier, un grand merci à **Vincent** pour nos nombreuses discussions sur les modèles et réflexions sur les hypothèses. Merci à toute **l'équipe de Tarja en Finlande** pour son accueil chaleureux, son partage de connaissances et sa précieuse contribution aux analyses sérologiques. Je tiens à remercier sincèrement **l'équipe de Lyon VetAgro et de l'Institut Pasteur**, en particulier **Marta**, pour son aide sur le terrain et son travail de biologie moléculaire pour la détection des leptospires. L'ensemble de ces collaborations a été d'une grande valeur ajoutée pour mes travaux de thèse. Merci plus

largement à l'ensemble des parties prenantes, aux financeurs et aux gestionnaires de sites qui ont permis la réalisation de ce projet de thèse et de l'acquisition des données.

Dans le cadre de ma thèse, j'ai également eu l'occasion d'interagir avec de nombreuses personnes au sein du CBGP, qui ont joué un rôle crucial. Je tiens à remercier chaleureusement tous les membres de **l'équipe Axe 3 Petits Rongeurs** qui ont suivi de près l'avancement de ma thèse. Merci en particulier à **Romain, Guillaume et Christophe** avec qui j'ai eu le privilège de travailler étroitement à la rédaction d'articles ou lors de conférences. Leur soutien et leurs conseils avisés ont été d'une grande valeur, guidant non seulement ma recherche scientifique, mais aussi mon cheminement personnel, notamment en termes d'orientation. J'aimerais remercier toutes les personnes, qui nous ont accompagnés sur le terrain, d'abord **Nathalie et Julien** qui m'ont tout appris dans la joie, la bonne humeur et le gore, tout en travaillant dur. Un grand merci à tous ceux qui nous ont accompagnés, particulièrement **Max, Anne, Guillaume, Sylvain, Romain et Emma** toujours aux rendez-vous et d'une aide précieuse. Ces moments sur le terrain ont été particulièrement appréciés de ma part, créant ainsi une véritable ambiance familiale au sein de notre petite équipe. Merci **Max, Anne, Anais et Caro** de m'avoir TOUT appris en Bio-mol. Votre gentillesse et votre rôle de tuteurs ont été absolument remarquables.

J'ai eu la chance d'avoir une équipe formidable, la plus belle et la plus drôle qui soit, et j'ai été véritablement bien entourée. Globalement, sans vous, je n'aurais pas pu mener ma thèse dans d'aussi bonnes conditions et je n'aurais pas pu obtenir les données et les articles nécessaires. Donc un immense merci à vous tous.

Pour moi, l'encadrement aura été une des expériences les plus enrichissantes de ma thèse, m'offrant l'opportunité d'approfondir ma compréhension de mon propre travail tout en prenant du recul pour le voir sous un nouvel angle. J'ai également pris un réel plaisir à transmettre les concepts et les techniques, en espérant ne pas avoir été trop exigeante. Merci **Julien** (mon tout premier stagiaire) tu as apporté une contribution exceptionnelle, et nos échanges scientifiques m'ont beaucoup appris, tant sur l'encadrement que sur les aspects de ma thèse, notamment au travers d'études préliminaires. Merci **Antoine**, tu t'es montré particulièrement autonome, et j'ai pris plaisir à travailler sur une partie de ma thèse que je n'avais pas encore eue l'occasion d'explorer en profondeur, à savoir les modèles épidémiologiques. Ta passion pour le sujet était indéniable et contagieuse ce qui m'incite à développer davantage ce domaine dans le futur. Merci **Fanny** pour ton enthousiasme, ton investissement et ta curiosité dans l'apprentissage du microbiote, ce fut un plaisir d'essayer de te transmettre cette passion. Tu as également apporté une contribution en réalisant une étude préliminaire à mes travaux. Je te remercie sincèrement pour cela.

Merci **Renaud et Carine** pour votre sollicitude et prévenance et merci plus largement **l'équipe d'astreinte et de gestion** qui m'ont permis de toujours travailler dans de bonnes conditions. Merci particulièrement **Geoffrey** de m'avoir guidé à travers tous les (très) nombreux ordres de mission. Merci **Nath et Sylvain** pour m'avoir dépatouillé de nombreuses fois en informatique. Merci **Sandra et Valérie**, d'avoir géré de nombreux dossiers administratifs. Merci aux membres impliqués dans l'organisation des AGs, des conférences du mardi, des clubs et de la gestion des ressources communes du CBGP. Merci **aux sportifs** (du dimanche) et les **participants de la bière partie** du vendredi soir (souvent les mêmes bizarrement) qui m'ont aidé à résister à la pression de la thèse et à maintenir une bonne santé mentale, quoi que parfois défaillante. Ces moments auront été une oasis de détente au milieu de mon travail assidu.

**Les non-permanents**, les anciens, les nouveaux, vous êtes tous formidables ! Vous m'aurez permis de raconter ma vie et mes blagues pourris tous les midis, et même parfois d'en rire. Les pauses goûter avec tous vos délicieux gâteaux m'ont tellement nourri de bonheur, merci ! Ensemble, nous avons célébré, décompressé lors de fêtes mémorables, et participé à une multitude d'activités, que ce soit des randonnées en montagne, des apéros à la plage, des concerts, des manifs, les soirées jeux, la journée d'intégration, le « camping paradis » au Salagou, les karaokés, les danses enflammées aux coulisses (Grrr), les descentes en canoé et la descente de nombreux verres, les repas délicieux autour de raclette-crêpe-fondue ou les 3 en mêmes temps, les weekends /vacances à la mer, à la montagne, en Finlande. Je tiens à préciser que je remets en jeu le titre de la plus longue détention du titre de "vomito" et le titre de la confection des pires gâteaux. Rassurez-vous, les deux ne sont pas liés ! Mais nous avons également travaillé dur, ou l'entraide était primordial. Merci **Bérénice et Alex** pour la correction des fautes d'orthographe de ce charmant manuscrit. Merci aux personnes qui ont pris en charge ou participé au **journal club des non-permanents**, qui était pour moi une source essentielle d'ouverture et d'apprentissage. Beaucoup d'entre vous m'auront soutenue et épaulé dans les moments difficiles de la thèse, un merci particulier pour **Camille, Émeline, Bérénice, Margaux, Isis et Jess**, devenues de très bonnes copines. Et surtout, bon courage pour la suite de vos expériences de thèse/post-thèse, en espérant qu'elles vous apportent autant de gratification que les miennes m'ont apporté. Je suis de tout cœur avec vous. N'oubliez pas que le soutien de chacun est essentiel et précieux pendant une thèse, parfois exigeante sur le plan émotionnel et personnel.

Un grand merci à mes amis de la fac (**Benjamin, Juliette, Picquenot, Beber, Lison, Rémi, Basile, Thomas, Justine, Madiou, Amandyne, Aurélia, Flavien, Jess**), ces compagnons précieux qui sont là en toutes circonstances, que ce soit pendant un confinement, lors de soirées mémorables, pendant les vacances, pour travailler ensemble, ou lorsque les temps sont difficiles. Nous avons évolué ensemble pendant nos années à la fac, partagés nos passions communes et débats émulsifiants, et aujourd'hui, nous avons tous pris notre envol, souvent dispersés à travers la France, et même à l'étranger. Malgré cette distance, nous avons encore partagé des moments formidables. Je suis extrêmement fière de nos parcours respectifs et je nourris l'espoir que cette belle amitié perdurera. Je tiens particulièrement remercier, la team MontpelliéReine **Justine, Madiou, Amandyne et Jess** pour m'avoir accueilli à Montpellier, pour votre précieux soutien, notamment lors de galère et surtout merci pour tous ces bons moments que nous avons passé sur Montpellier. Merci de m'avoir hébergé sur votre canapé pendant plus de 4 mois, ainsi que pendant tous les week-ends de fêtes.

Merci les copains/copines des **copains/copines de Montpellier** et ci. Merci **Yann**, pour ces doux moments partagés au cours d'un long été qui était finalement bien trop court. Je te remercie d'avoir partagé tes passions, qu'elles soient scientifiques ou personnelles, et pour tous les précieux conseils que tu m'as prodigués pour cette thèse. Enfin, je remercie **les bons vieux copains**, particulièrement **Gwen**, le plus fidèle camarade, je te remercie de ton soutien pendant toutes ces années, pour avoir écouté mes plaintes et mes questionnements sur le sens de la vie.

Un énorme merci aux **meilleurs coco-bureaux** de tous les temps. Après plus de 3 ans à se supporter tous les jours, c'est vrai que je ne savais pas si je devais vous mettre dans la partie CBGP, amies ou famille ?!

**Isis**, tu es la meuf la plus perchée que je connaisse ! Qui aurait pu imaginer que nos chemins se croiseraient entre les deux mondes qui habitent nos esprits ? Seule une mitochondrie le sait ! Plus sérieusement, je te remercie des mille conseils sur le plan travail que ce soit en statistiques, R, problèmes de thèses, ou sur le plan personnel. Tous ses conseils étaient agrémentés de nombreux

délires, que personne d'autres pouvaient comprendre (nos tests psychologiques, les lectures d'avenir, l'organisation de la Saint-Valentin, les délires avec chati, les années 80). Tout ceci m'a permis de mieux appréhender cette thèse au quotidien. Quand j'ai connu Isis elle était sur une chaise droite, à lire des bouquins, sans sourciller un orteil, aujourd'hui après 3 ans passés ensemble, elle est devenue une amie chère à mes yeux et n'a plus peur de sautiller partout. Prends ton envol petit oiseau !

**Jess**, j'ai failli mourir au moins 3 voire 4 fois en ta compagnie, au travers de treks, ou juste des 'balades'. Je ne sais pas si je dois te remercier pour ça, mais merci de m'avoir fait vivre plein de jolies aventures et péripéties. Merci d'avoir aussi bien égaillé ma vie avec de nombreux rires aussi bien au boulot comme en-dehors, merci de m'avoir soutenue sans faille, malgré ma chiantitude, merci pour ces longs débats interminables, merci de ta franchise et tes conseils. Presque 4 ans qu'on se suit, tu es devenue pour le meilleur et pour le pire un membre à part entière de ma famille, après tout, j'ai été ta fille aux yeux de la CAF, j'attends avec impatience que tu me rejoignes aux Etats Unis pour de nouvelles aventures, sinon je ne sais pas ce que je vais devenir.

Je vous remercie d'avoir supporté mes « bruits » de bureaux à tout-va, chant, cris, pleurs et rires... (Pardon). Cette thèse n'aurait pas été pareille sans vous. Nous avons vécu cette expérience difficile et incroyable toutes les 3, main dans la main, coude contre coude, et parfois même œil pour œil, dents pour dents, ce qui a forgé une amitié profonde et des souvenirs qui dureront certainement toute notre vie (best best love cœur cœur); merci à vous deux, tout simplement.

Je remercie tous les Poncinois dont les  $\frac{3}{4}$  sont **ma famille**, merci pour vos repas toujours enjoués et animés et merci d'être de fervents supporters, comme lors d'un match de foot. Merci en particulier à mes **grands-parents** pour leur amour chaleureux ! Et surtout un énorme merci à **mes parents** à qui je dois tout ! Pour donner un exemple de leur soutien inconditionnel dans tout ce que j'entreprends : ils m'ont entraîné à disséquer des rongeurs, pour m'aider à surmonter mes craintes avant de commencer ma thèse ! Cela peut sembler quelque peu bizarre, nous sommes à vrai dire souvent désignés comme atypique, un peu à la manière de la famille Bidochon, mais j'ai l'immense privilège de faire partie de cette famille unie, dont la devise serait « Soyez vous-même et soyez heureux, put\*\*\*! ». Merci à **mon père** qui m'a appris à cultiver ma différence sans aucune honte. Merci d'avoir toujours cru en moi, et d'avoir toujours soutenu et alimenté mon ambition en m'encourageant à dépasser mes limites. Merci de me faire rire à tout moment. Merci d'avoir appris à développer mon sens critique, et de débattre en toute circonstance, sans jamais avoir peur mêmes quand les opinions divergent. Merci de m'avoir élevé à la campagne et d'avoir éveillé mon intérêt pour la nature (bien que mon côté naturaliste n'ait jamais été pleinement développé, malgré tes efforts). Merci à **ma mère** ! Merci pour ton amour incommensurable, ton soutien inestimable et tes encouragements quotidiens. Tu es capable de m'écouter me plaindre, pleurer, crier et répondre à tous les problèmes de ma vie, y compris ceux liés au travail, et ce, à n'importe quelle heure. Je n'ai jamais compris comment tu réussissais à être une auditrice aussi exceptionnelle et à prodiguer des conseils sans faille. Merci de m'avoir transmis toute ta force mentale. Merci de m'avoir inculqué des valeurs aussi nobles que courageuses. Et merci d'avoir aussi joué le rôle d'intendante, secrétaire, comptable, organisatrice d'événements, et bien d'autres rôles encore. Et n'oublions pas les membres royaux de la famille, merci **Eden** et **Mistral** pour toute votre affection.

## Liste des publications et communications orales

### Articles publiés

- **Bouilloud M.**, Galan M., Dubois A., Diagne C., Marianneau P., Roche B. and Charbonnel N. (2023) *Three-way relationships between gut microbiota, helminth assemblages and bacterial infections in wild rodent populations*, PeerCommunity Journal, 3: e18
- Pradel J, **Bouilloud M**, Loiseau A, Piry S, Galan M, Artige E, Castel G, Ferrero J, Gallet R, Thuel G, Vieira N, Charbonnel N (2022) *Small terrestrial mammals (Rodentia and Soricomorpha) along a gradient offorest anthropisation (reserves, managed forests, urban parks) in France*. Biodiversity Data Journal 10: e95214
- Bourret, V., Dutra, L., Alburkat, H., Mäki, S., Lintunen, E., Wasniewski, (...) **Bouilloud M.**, (...) Sironen, T. (2022). *Serologic Surveillance for SARS-CoV-2 Infection among Wild Rodents, Europe*. *Emerging Infectious Diseases*, 28(12), 2577-2580.
- Castel G., Alburkat H., Lara Dutra L., **Bouilloud M.**, (...), Charbonnel N.. *Puumala orthohantavirus circulation in its wild reservoir, the bank vole, during the 2021 outbreak of hemorrhagic fever with renal syndrome in Jura, France*. *Infectious Diseases Now*, 10.1016/j.idnow.2023.104767

### Articles soumis ou en préparation

- Alburkat H., Olander V., (...), **Bouilloud M.** (...), Charbonnel N., Castel G.. *Evolution and Genetic Characterization of Seoul Virus in Wild Rats *Rattus Norvegicus* from an urban park in Lyon, France* (soumis dans Plos NTD journal)
- Arnal A., Gozlan R.E., Charbonnel N., **Bouilloud M.**, (...), Roche B., *How can conservation biology help prevent zoonotic disease outbreaks?* (soumis)
- **Bouilloud M**, Maxime Galan, Julien Pradel, Anne Loiseau, Julien Ferrero, Romain Gallet,, Benjamin Roche, Nathalie Charbonnel. *Urbanization of forests impacts the relationships between small mammal communities and their gut microbiome* (soumis dans Science of the Total Environment)
- **Bouilloud M**, Galan M., Bordes A., Tatard C., Loiseau A., Pradel J., Alburkat H., Dutra L., Sironen T., Sluydts V., Roche B., Charbonnel N.. *Updating the debate on the dilution/amplification effect by considering the prevalence of several pathogens within small mammal communities along an anthropization gradient*. (en préparation pour Nature Communications)
- **Bouilloud M.**&Canet A., Charbonnel N., Roche B. Contributions of epidemiological modeling to the study of rodent management with reciprocal benefits for public health and biodiversity. (en préparation)

- Garcia-lopez M., Lurier T., **Bouilloud M.**, (...), Bourhy P., Charbonnel N. And DJELOUADJI Z: *Pathogenic Leptospira species in small mammals, genetic diversity and ecoepidemiology in urban and periurban parks of Lyon, France* (en preparation pour Plos One)
- Sluydts V., **Bouilloud M.**, Colombo V., Galan M., (...), Leirs H., Charbonnel N.. *Are associations between zoonotic pathogens driven by host community diversity, gut microbiome and environmental indicators in forests and urban parks throughout Europe?* (en preparation pour Ecography)

### Conferences internationales

- Talk presentation, SFE<sup>2</sup> & GfÖ & EEF joint meeting, **International Conference on Ecological Sciences, Ecology and Evolution: New perspectives and societal challenges**, 2022, Metz, France
- Talk presentation, 17th edition of **Rodens and Spatium** 2023, Valladolid, Espagne
- Poster presentation, **International Symposium of the World Association of Veterinary Laboratory Diagnostician** (ISWAVLD 2023), Lyon, France

### Conferences locales

- Présentation lors de **workshops et de séminaires BioRodDis** (Anvers, Paris, via vidéoconférence).
- Présentations locales au sein des équipes et des laboratoires, notamment au CBGP, à l'IRD (Journées PhD) et lors de rassemblements de recherche collaborative tels que le "**Printemps de Baillarguet**".
- Participation à des événements de comités thématiques en France, comme la "**Journée des Rongeurs**" (présentation annuelle)
- Présentation des objectifs de terrain aux gestionnaires de sites (Office National des Forêts)
- Cours magistral à l'Université de Toulouse
- Participation au tournage d'un film documentaire –Marie-Monique Robin

## Table des matières

<b>Avant-propos</b>	<b>2</b>
<b>Remerciements</b>	<b>3</b>
<b>Liste des publications et communications orales</b>	<b>8</b>
<b>Introduction générale</b>	<b>14</b>
<b>I. L'émergence des zoonoses : Une préoccupation majeure face à l'impact anthropique croissant</b>	<b>15</b>
A. Les maladies infectieuses émergentes: une menace croissante pour la santé humaine	15
B. Les zoonoses, une composante prédominante des maladies infectieuses émergentes	19
C. Le rôle de l'anthropisation dans l'augmentation du risque d'émergence des zoonoses	22
<b>II. Apport de l'écologie des communautés à la compréhension de la circulation des pathogènes chez les hôtes</b>	<b>27</b>
A. La biodiversité des communautés d'hôtes peut réguler la circulation des pathogènes	27
B. Les mécanismes de la relation biodiversité - circulation des pathogènes	30
C. Les conséquences de l'anthropisation sur l'assemblage des communautés d'hôtes	32
<b>III. Contribution de l'écologie des communautés microbiennes dans la compréhension de la circulation des pathogènes.</b>	<b>34</b>
A. Ecologie des communautés microbiennes	34
B. Le rôle du microbiote intestinal dans l'adaptation de l'hôte	37
C. Le rôle du microbiote intestinal sur la sensibilité de l'hôte aux pathogènes	40
<b>IV. Le modèle d'étude : Les petits mammifères terrestres forestiers</b>	<b>42</b>
A. La menace de l'anthropisation des forêts et des milieux boisés sur les communautés de petits mammifères et le risque d'émergence	42
B. Les petits mammifères terrestres, une communauté diversifiée pouvant abriter de nombreux micro-organismes	44
C. L'implication du microbiote intestinal des petits mammifères dans la circulation des pathogènes	47
<b>V. Objectifs scientifiques de la thèse</b>	<b>48</b>
<b>Chapitre 1. Présentation des méthodes d'étude et du système multi-hôtes multi-pathogènes</b>	<b>51</b>
I. Contexte	51
II. Caractérisation environnementale des sites d'études	53

A.	Localisation et contexte des sites d'étude _____	53
B.	Quantification des différences bio-géoclimatiques _____	54
C.	Quantification du gradient d'anthropisation _____	56
<b>III.</b>	<b>Caractérisation des communautés de petits mammifères terrestres _____</b>	<b>59</b>
A.	Echantillonnage des hôtes et prélèvements des organes _____	59
B.	Identification morphologique et moléculaire des espèces de petits mammifères _____	64
C.	Variations spatio-temporelles des communautés de petits mammifères _____	66
D.	Ecologie des espèces de petits mammifères _____	68
E.	Définition de groupes fonctionnels et caractérisation de la condition corporelle des petits mammifères _____	72
<b>IV.</b>	<b>Caractérisation des agents pathogènes _____</b>	<b>77</b>
A.	Choix des méthodes de détection et leurs limites _____	77
B.	Détection des bactéries sans a priori par metabarcoding 16S _____	79
C.	Détection ciblée et caractérisation des leptospires par qPCR _____	82
D.	Détection d'anticorps anti-virus par des méthodes sérologiques _____	83
<b>V.</b>	<b>Communauté de pathogènes et éco-épidémiologie _____</b>	<b>85</b>
A.	Communauté de pathogènes détectés _____	85
B.	Variations spatio-temporelles de la communauté de pathogènes _____	88
C.	Etudes spécifiques menées sur quelques pathogènes zoonotiques _____	94
<b>VI.</b>	<b>Conclusions du chapitre 1 _____</b>	<b>102</b>
<b>Chapitre 2. Combinaison d'analyses théoriques et empiriques pour comprendre la relation entre la biodiversité des communautés de petits mammifères et la prévalence des pathogènes _____ 103</b>		
<b>I.</b>	<b>Contexte _____</b>	<b>103</b>
<b>II.</b>	<b>Etude empirique _____</b>	<b>104</b>
A.	Abstract _____	104
B.	Introduction _____	106
C.	Material and Methods _____	109
D.	Results _____	114
	<i>Influence of environment on pathogen presence and small mammal biodiversity</i> _____	119
E.	Discussion _____	121
F.	References _____	127
<b>III.</b>	<b>Etude théorique _____</b>	<b>137</b>
A.	Contexte _____	137



B.	Matériels et méthodes	140
C.	Résultats	148
D.	Discussion	151
E.	References	156
<b>IV.</b>	<b>Conclusions générales</b>	<b>164</b>
<b>Chapitre 3. Description de la structure et de la variabilité du microbiote intestinal des petits mammifères le long d'un gradient d'anthropisation</b>		<b>166</b>
I.	Contexte	166
II.	Analyse spatio-temporelle du microbiote intestinal d' <i>Apodemus sylvaticus</i>	167
III.	Impact de l'anthropisation des forêts sur les relations entre les communautés de petits mammifères et leur microbiote intestinal	169
A.	Abstract	169
B.	Introduction	170
C.	Material and Methods	175
D.	Results	182
E.	Discussion	194
F.	References	199
IV.	Conclusion	208
<b>Chapitre 4 – Analyse des interactions entre communautés microbiennes commensales et communautés de pathogènes</b>		<b>209</b>
I.	Contexte	209
II.	Relations tripartites entre le microbiote intestinal, les assemblages d'helminthes et les infections bactériennes dans les populations de campagnols roussâtres.	210
A.	Abstract	210
B.	Introduction	211
C.	Material and methods	215
D.	Results	221
E.	Discussion	230
F.	REFERENCES	237
III.	Conclusion	244
<b>Discussion Générale</b>		<b>245</b>
I.	Synthèse générale	245

<b>II. Importance de l'écologie des communautés en écologie de la santé</b>	<b>247</b>
A. Une meilleure compréhension des corrélations entre les indices de diversité de différentes communautés	247
B. Une meilleure compréhension de l'influence relative des processus déterministes et stochastiques dans l'assemblage des communautés	249
C. Une meilleure représentation des interactions complexes entre communautés	249
<b>III. Importance des traits fonctionnels des petits mammifères dans les interactions entre communautés de différents niveaux biologiques</b>	<b>251</b>
A. La compétence est une résultante des traits fonctionnels des espèces de petits mammifères	252
B. L'anthropisation augmente le danger zoonotique via la modification de la structure fonctionnelle des communautés d'hôtes	255
C. L'urbanisation est-elle associée à une moins bonne santé des hôtes ?	258
<b>IV. Des changements d'échelle en perspective</b>	<b>259</b>
A. Nécessité de prendre en compte différentes échelles biologiques pour mieux évaluer les relations entre biodiversité et zoonoses	259
B. Nécessité d'évaluer les relations entre biodiversité et zoonoses à différentes échelles spatio-temporelles	262
<b>V. Mieux répondre aux recommandations dictées par le concept « One health »</b>	<b>264</b>
A. Améliorer la surveillance du danger zoonotique selon les recommandations liées au concept « One health »	264
B. Reconsidérer les espèces de petits mammifères et adopter une approche gagnante-gagnante	268
C. Intégrer les connaissances sur les microbiotes dans le concept « One health »	273
<b><i>Bibliographie du manuscrit (hors articles)</i></b>	<b>278</b>
<b><i>Abstract</i></b>	<b>316</b>
<b><i>Résumé</i></b>	<b>317</b>

## Introduction générale

« Ne vous y trompez pas, ces épidémies qui se succèdent sont liées les unes aux autres. Et elles ne nous arrivent pas par hasard ; elles sont le résultat involontaire de nos actions » David Quammen, Spillover : Les infections animales et la prochaine pandémie



Fig. 1 Quelle image ou idée vous vient à l'esprit lorsqu'on vous évoque le terme "maladies infectieuses" ? - Compilation de photographies et de peintures illustrant l'évolution de la pensée collective et culturelle au fil du temps lorsqu'il s'agit de la notion de "maladies infectieuses". Exemples de mots clés : « Peste et choléras », pandémie du Covid-19, Paludisme, maladies et symptômes, Vaccin, masques et autres mesure de protections individuelles, dépistage, mort, contagion ou transmission, zoonoses, Représentation des zombies et scénarios post-apocalyptiques --- source (© Pictorial Press Ltd / Alamy Stock Photo, Wikimedia common - Masque covid Yoav Aziz sur Unsplash, Photo de CDC sur Unsplash, Photo de Mufid Majnun sur Unsplash virus ebola D.Berehulak/AP/Sipa et Abbas Dulleh /AP zombie : denny-muller et Yohann LIBOT sur Unsplash grippe;Andrea Piacquadio, Getty Images)

## I. L'émergence des zoonoses : Une préoccupation majeure face à l'impact anthropique croissant

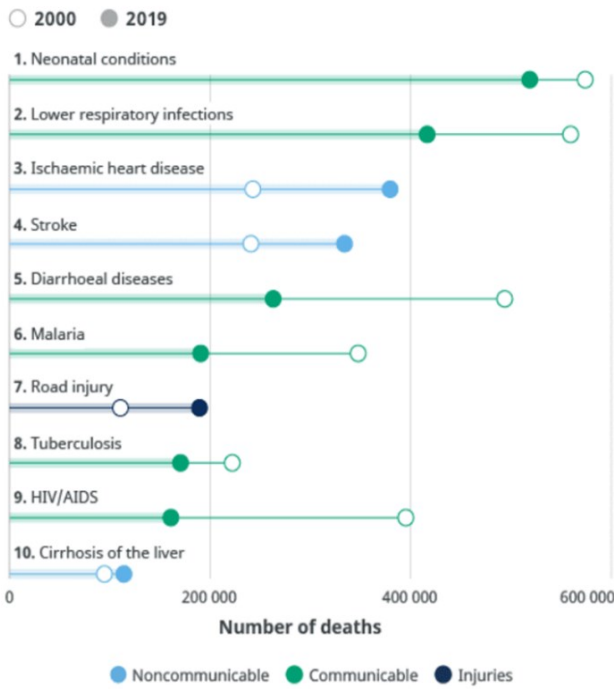
### A. Les maladies infectieuses émergentes: une menace croissante pour la santé humaine

Pendant longtemps, les maladies infectieuses ont été au centre des préoccupations, engendrant d'effroyables pertes humaines (Weiss & McMichael, 2004). Leur impact a laissé des traces durables dans la conscience humaine, contribuant à façonner l'histoire et la culture de manière profonde (**Fig.1**). Les avancées scientifiques et sanitaires, incluant les vaccins, les antibiotiques et d'autres traitements, ainsi que les améliorations en matière d'hygiène, ont réduit considérablement les dangers que représentaient les maladies infectieuses qui étaient autrefois prédominantes (Baker et al., 2021; Morand & Lajaunie, 2017; Weiss & McMichael, 2004). Ces progrès ont été si notables qu'ils ont pratiquement relégué ces maladies au second plan dans la conscience collective (Cunningham et al., 2017a).

Cependant, les maladies infectieuses demeurent prédominantes en tant que causes de décès dans les pays à faible revenu, comme en témoignent les récents rapports de l'OMS pour l'année 2019 (**Fig2A**). Les maladies infectieuses englobant les problèmes néonataux, les insuffisances respiratoires, les diarrhées, la malaria, la tuberculose et le SIDA restent prévalentes (**Fig.2A**). En contraste, dans les pays développés, les principales causes de décès sont les maladies cardiovasculaires, la maladie d'Alzheimer, les cancers liés au tabac et autres cancers, ainsi que les maladies chroniques (**Fig.2B**, OMS rapport et Roser et al., 2021).

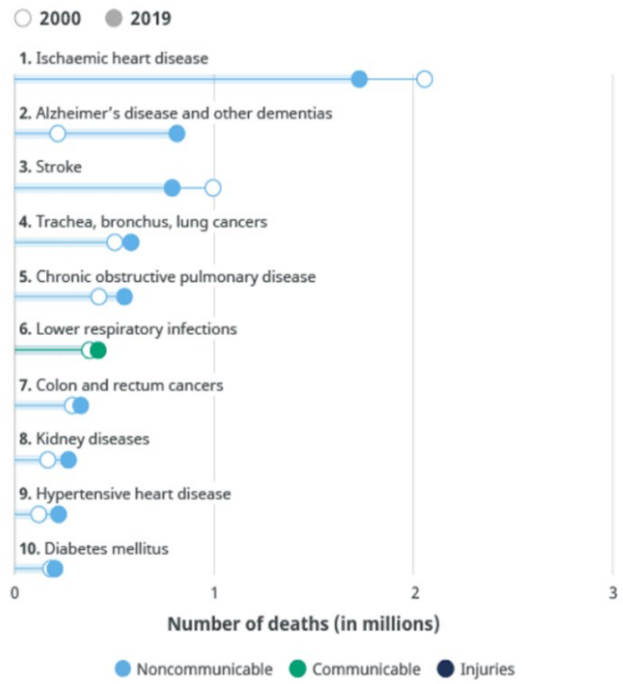
Malgré une réduction du nombre de décès attribuables aux maladies transmissibles entre 2000 et 2019, des inégalités significatives demeurent quant à l'accès aux infrastructures médicales et aux soins de qualité dans les nations à faible revenu, d'après les conclusions de l'étude "Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors" 2019 ( **Fig.2C**, Haakenstad et al., 2022). Ces régions se trouvent ainsi privées non seulement d'accès à divers traitements, vaccins, mesures préventives et soins médicaux disponibles dans les pays aisés, mais ces disparités sont également exacerbées par les modes de vie qui découlent de faibles revenus. Cela inclut des problèmes tels que le manque d'accès à l'eau potable, la malnutrition et un niveau réduit d'hygiène (Sterck et al., 2018). En plus, leur environnement se situe souvent dans des zones de « points chauds » pour ces maladies infectieuses, pouvant ainsi d'autant plus renforcer ce déséquilibre (Sterck et al., 2018).

### A Leading causes of death in low-income countries



Source: WHO Global Health Estimates. Note: World Bank 2020 income classification.

### B Leading causes of death in high-income countries



Source: WHO Global Health Estimates. Note: World Bank 2020 income classification.

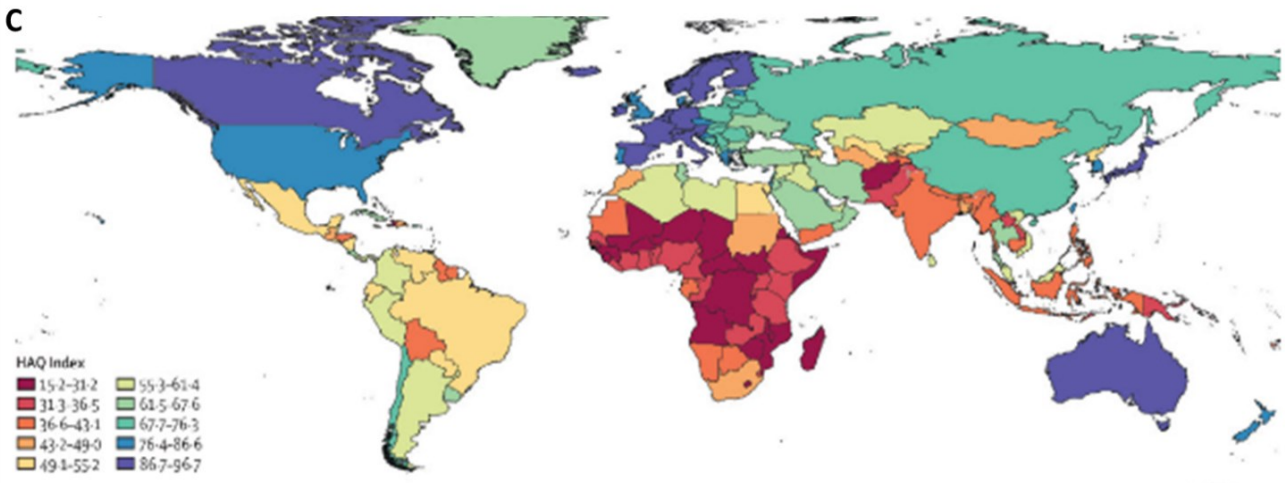


Fig.2 Principales causes de décès enregistrées en 2000 et 2019 issues de l'Organisation mondiale de la Santé dans : A) Les pays à faibles revenus et B) Les pays à forts revenus. Les codes couleurs sont les suivants : le vert indique que les causes de décès résultent de maladies transmissibles, le bleu désigne les causes non transmissibles, et le noir est lié à des blessures. Les zones remplies représentent l'année 2019, tandis que les zones vides représentent 2000. C) L'indice d'accès et de qualité des soins de santé globaux en 2019, par pays et territoire, dérivé du score de l'âge de 0 à 74 ans provenant de l'étude "Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors" 2019 (Haakenstad et al., 2022). Les couleurs reflètent le gradient d'accès et de qualité des soins de santé, allant du rouge pour indiquer un accès très faible, au bleu foncé pour indiquer un accès très élevé.

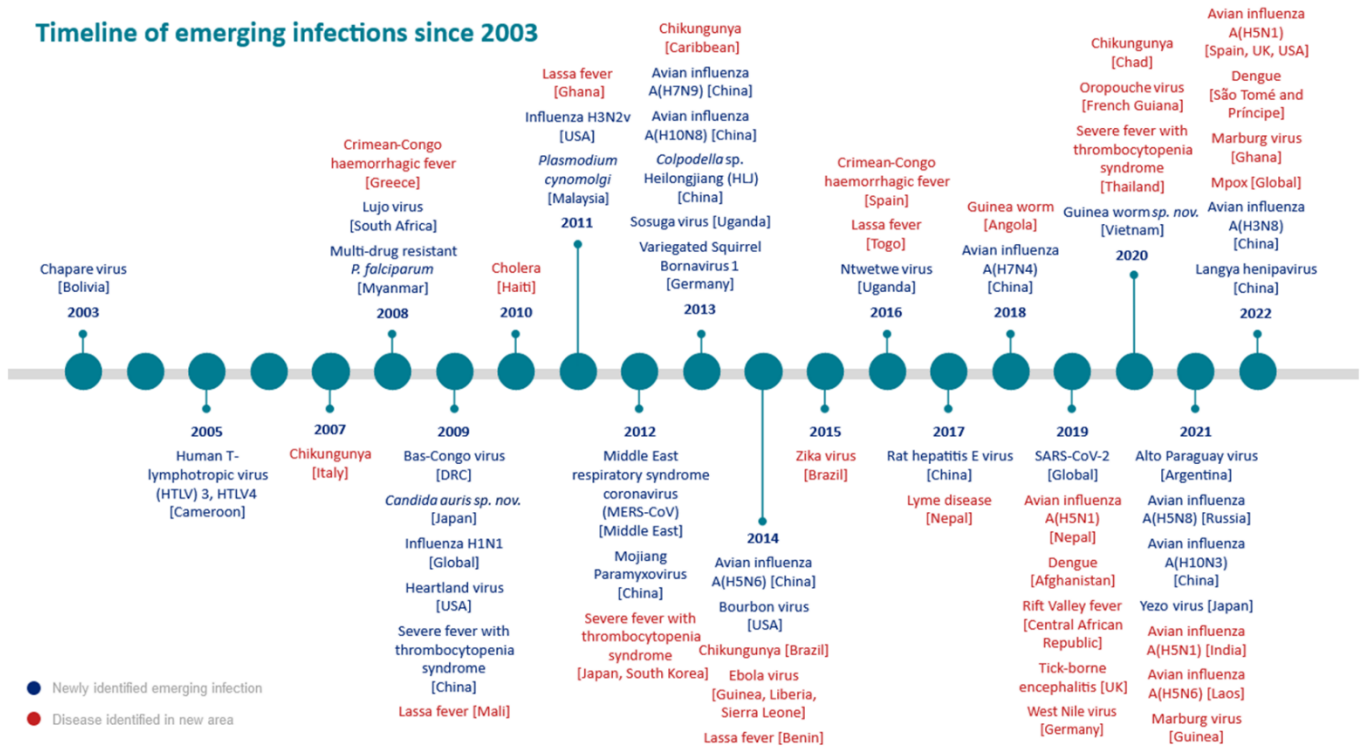
Alors que les avancées scientifiques continuent d'évoluer, la menace posée par les maladies infectieuses progresse parallèlement. Les chercheurs signalent une augmentation continue du nombre de maladies infectieuses émergentes, depuis les années 1980 (**Fig.3A**, Baker et al., 2021; Jones et al., 2008; Smith et al., 2014), telles que celles liées aux virus *Zika* (Gutiérrez-Bugallo et al., 2019), *SARS* et *MERS-CoV* (Milne-Price et al., 2014), *SARS-Cov2* (Contini et al., 2020, **encadré 1**), virus de la grippe (Taubenberger & Kash, 2010), Ebola (Gire et al., 2014) ainsi que des agents pathogènes tels que *Borrelia* (Steere et al., 2004), *Leptospira* (Hartskeerl et al., 2011) et l'agent de la fièvre Q (Angelakis & Raoult, 2011). Certaines de ces maladies réapparaissent même après avoir été réduites à bas bruit à l'échelle mondiale. Ces phénomènes sont qualifiés de "maladies émergentes" ou "réémergentes", se référant à des maladies nouvellement apparues dans une population ou ayant existé auparavant mais dont l'incidence augmente rapidement (définition de l'OMS). Plus précisément, les agents de ces maladies peuvent se propager rapidement dans de nouvelles populations, régions ou périodes différentes de celles précédemment connues (Dufour, 2017; Toma & Thiry, 2003). De nombreuses maladies autrefois limitées aux régions tropicales sont désormais présentes à l'échelle intercontinentale, comme en témoignent la détection du virus du Nil occidental (Sambri et al., 2013) ou du *Chikungunya* en Europe (Amraoui & Failloux, 2016) et plus récemment le *MonkeyPox* (Zaheer et al., 2022) (**Fig.3B**).

Ces agents pathogènes émergents ou réémergents entraînent un nombre significatif de décès (Baker et al., 2021). Les mesures mises en place pour lutter contre ces maladies, bien que de plus en plus rapides et sophistiquées, demeurent plus lentes que la vitesse de propagation des agents infectieux. Cette situation marque l'avènement d'une nouvelle ère épidémique, caractérisée par l'abolition des barrières géographiques, une augmentation de l'émergence des maladies et des contraintes scientifiques, médicales et politiques dans leur lutte (Baker et al., 2021). Les conséquences sanitaires, économiques et sociales désastreuses (Smith et al., 2019) replacent une fois de plus les maladies infectieuses au premier plan des préoccupations majeures du XXI<sup>e</sup> siècle (**encadré 1**).



A

### Timeline of emerging infections since 2003



B

### Global map of emerging infections since 2003

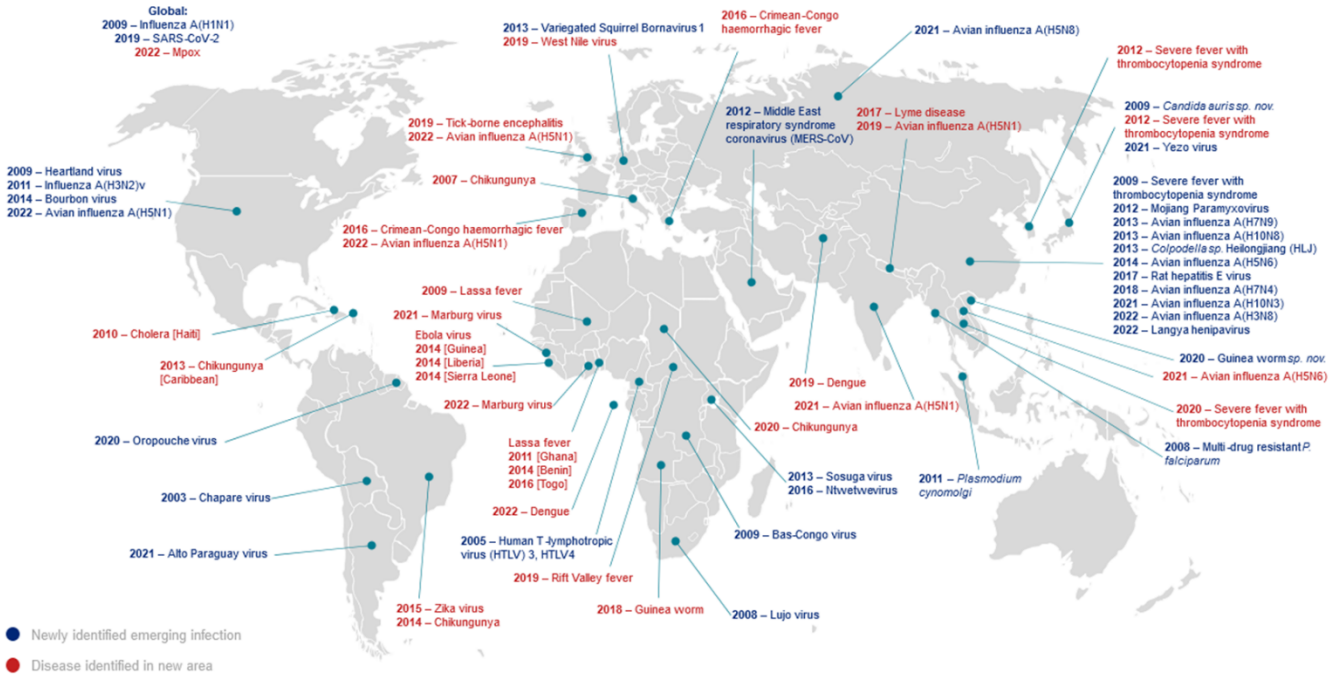


Fig. 3 A. Chronologie des infections émergentes nouvellement identifiées et des épidémies notables de maladies humaines dans de nouvelles zones entre 2003 et 2022 B. Carte mondiale des infections émergentes nouvellement identifiées et des épidémies notables de maladies humaines dans de nouvelles zones entre 2003 et 2022. Les deux figures sont issues d'une publication de l'Agence britannique de sécurité sanitaire (2023). La couleur bleue indique une nouvelle émergence de maladie infectieuse, tandis que la couleur rouge indique un pathogène connu mais enregistré dans une nouvelle aire géographique, dans laquelle le pathogène n'était pas présent avant.

### Encadré 1 : Le cas du COVID-19 une prise de conscience de la menace

Aujourd'hui, comme le souligne la crise de la pandémie du COVID-19 (Frosh & Georgiou, 2022), les maladies infectieuses ont le potentiel d'avoir un impact mondial avec une rapidité et une ampleur inattendues (Dharmarajan et al., 2022).

Premièrement, la population a pris conscience de la menace que représente l'émergence de nouveaux virus totalement inconnus, pouvant surgir de manière imprévisible et se propager rapidement à travers tous les continents (Mishra et al., 2021). Ces agents pathogènes sont d'autant plus préoccupants qu'ils ont la capacité d'induire des syndromes variés, allant du léger au grave, et engendrant un taux de morbidité modéré (Organisation mondiale de la Santé et al., 2023).

Deuxièmement, cette crise a mis en lumière la vulnérabilité des centres de soins et la complexité des prises de décisions politiques. Le développement *post facto* de vaccins et d'autres traitements (Chatterjee et al., 2021), bien qu'exceptionnellement rapide, a néanmoins pris du temps par rapport à la vitesse de propagation de la maladie, ce qui a malheureusement entraîné un nombre considérable de décès. D'après l'Organisation mondiale de la santé (OMS), le nombre total de décès associés à la pandémie de COVID-19 seraient d'environ 14,9 millions. Bien que la majorité de ces décès ait été constatée dans les pays à faible revenu, les répercussions ont touché toutes les catégories sociales et économiques, comme en témoigne l'OMS.

Enfin, elle a entraîné une crise économique et sociale sans précédent dont les stigmates sont encore visibles (Ozili & Arun, 2020). Cela a permis aux maladies émergentes de retrouver une place centrale dans la conscience collective, comme le montrent les médias (Hammes et al., 2021), les modes de vie et même la culture populaire cinématographique, où les virus engendrant une "fin du monde" sont devenus des motifs récurrents (Peters, 2020, **Fig.1**). Il est impératif de tirer des enseignements des vulnérabilités préexistantes à cette crise, dans le but de mieux se préparer en vue des épidémies futures (Dharmarajan et al., 2022).

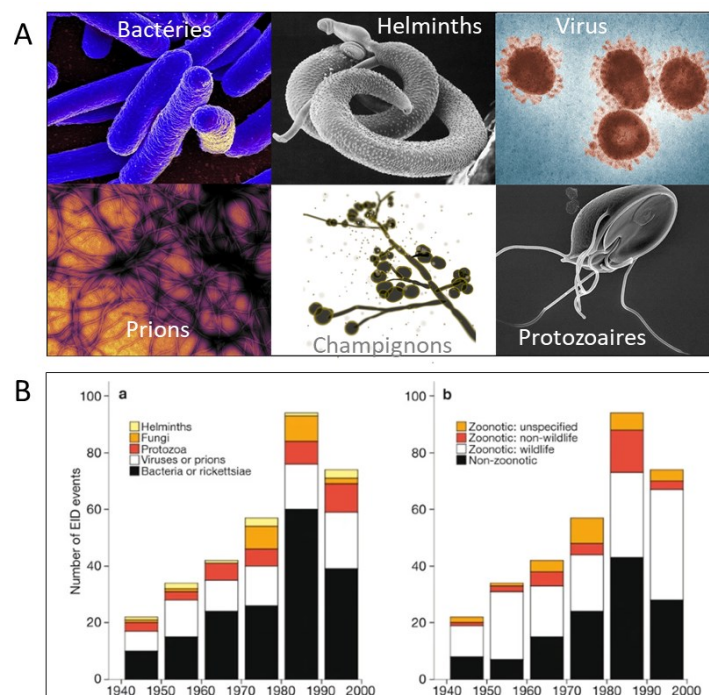
#### B. Les zoonoses, une composante prédominante des maladies infectieuses émergentes

Compte tenu de l'importance croissante des implications des maladies infectieuses, la compréhension de leur émergence est devenue une priorité essentielle. Pour ce faire, de nombreux chercheurs se sont efforcés de caractériser la nature de ces émergences, notamment les types de pathogènes impliqués, à la fois du point de vue taxonomique et de leurs caractéristiques écologiques telles que le mode de transmission et leur origine (Jones et al., 2008; Olival et al., 2017).



Tous les micro-organismes ne sont pas pathogènes (Morse et al., 2012), mais plutôt commensaux ou symbiotiques (Casadevall & Pirofski, 2000), apportant d'importants avantages à leurs hôtes, parfois vitaux pour leur survie. En revanche, les pathogènes imposent des coûts significatifs à la santé de l'hôte en provoquant des maladies infectieuses (Casadevall & Pirofski, 2019). Cette balance complexe entre avantages et coûts fluctue dans le temps et l'espace et est intimement liée aux espèces hôtes (Casadevall & Pirofski, 2019; Gundel et al., 2011). Les micro-organismes pathogènes peuvent manifester des effets variables selon l'hôte, allant de la neutralité à la virulence avec des symptômes pouvant engendrer des conséquences graves, et dans certains cas conduire à la mortalité de l'hôte (Casadevall & Pirofski, 2001; Leigh, 2010).

Alors que les recherches passées se sont principalement concentrées sur les virus, en particulier les virus à ARN en raison de leur capacité à muter rapidement et à s'adapter à de nouveaux hôtes, seulement 25,4 % des pathogènes responsables des maladies infectieuses sont de ce type. En revanche, la grande majorité, soit 54,3 %, sont des bactéries. Les autres types de pathogènes comme les champignons, les protozoaires et les helminthes jouent un rôle moindre dans les maladies infectieuses émergentes (Jones et al., 2008, Fig 4A et 4Ba).



**Fig. 4** A. Photos illustrant les différents groupes taxonomiques pouvant être pathogènes. B. Figures issues de Jones et al, 2008 illustrant a) les différents groupes taxonomiques à l'origine des maladies infectieuses émergentes et b) les différentes origines des pathogènes zoonotiques

© Photos de virus du CDC sur Unsplash, prions, DataBase Center for Life Science (DBCLS) sur wikimedia common

Jones et al. (2008) estiment que plus de 70% de ces maladies infectieuses émergentes seraient d'origine zootique avec la majorité de celles-ci impliquant la faune sauvage (Fig.4Bb). Diverses espèces animales exercent la fonction de réservoirs en abritant ainsi des agents pathogènes et en facilitant leur transmission à d'autres populations, y compris la population humaine (Vourc'h et al., 2021). Par exemple, le virus *Ebola* proviendrait des chauves-souris en tant qu'hôtes réservoirs, le VIH du chimpanzé, le virus de la grippe porcine *H1N1* du porc, le virus *MERS* des chameaux, le virus de la variole du singe serait originaire des rongeurs (Montgomery & Macdonald, 2020).

Dans ces zoonoses, la transmission interspécifique de l'agent infectieux se produit de deux façons principales : par un contact direct entre les réservoirs sauvages et les humains et par des transmissions indirectes impliquant des animaux intermédiaires (Fig.5). Ces animaux intermédiaires peuvent être des espèces ponts, en contact avec à la fois les animaux sauvages et les humains, tels que les animaux domestiques et les compagnons vivant avec les humains, ou par le biais d'espèces vectrices (Fig.5). Les contacts directs prennent diverses formes, comme le toucher, l'ingestion d'aliments, les morsures, les griffures, ou même l'exposition à des particules en suspension dans l'environnement. En revanche, les transmissions via des vecteurs se font par piqûres (Vourc'h et al., 2021).

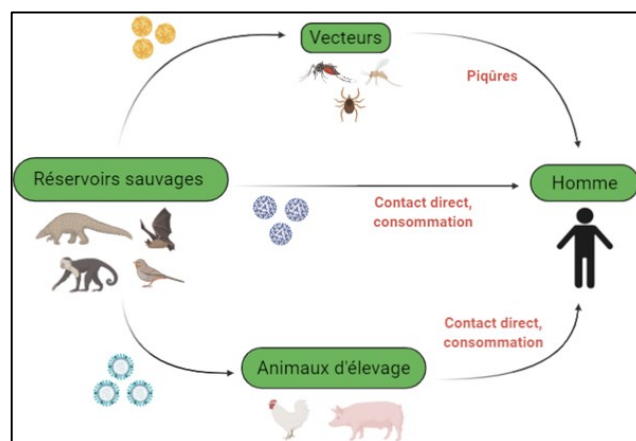
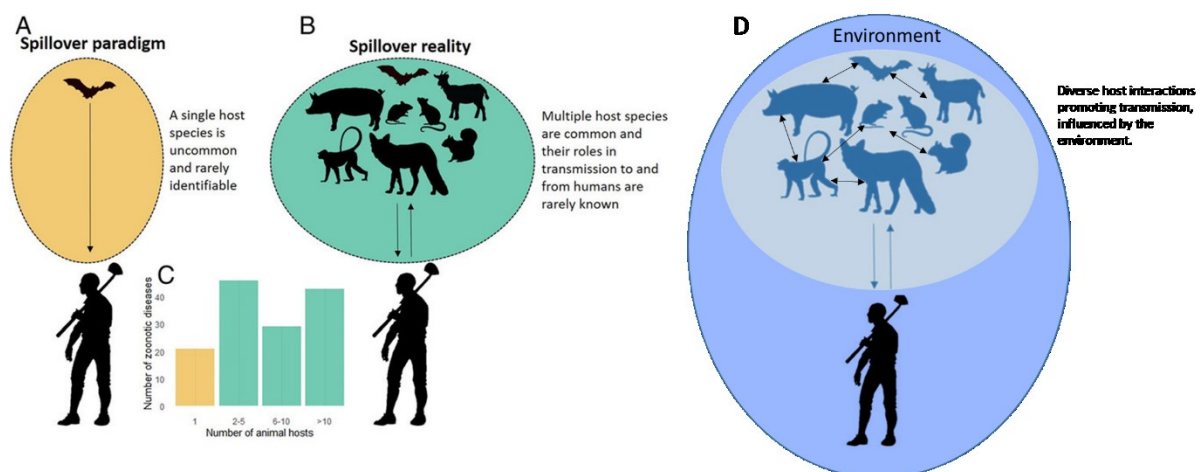


Fig.5. Figure issue de Avarre et al., 2020, illustrant les types de transmission directe et indirecte entre les réservoirs de la faune sauvage et les êtres humains.

Alors que l'on considérait autrefois les changements (débordements pour spill-over) d'hôtes peu fréquents, il semble qu'ils soient plus courants que prévu, avec des pathogènes couvrant un continuum de spécificité d'hôte, allant de la spécialisation à une seule espèce hôte à une

large gamme d'hôtes (Kreuder Johnson et al., 2015; Ostfeld & Keesing, 2022, **Fig.6ABC**). Des études ont montré que la plupart des virus potentiellement pathogéniques sont partagés par de nombreux hôtes (Johnson et al., 2015). Dans la faune sauvage, les transmissions sont fréquentes en raison des interactions inter-hôtes significatives (prédation, compétition, partage d'habitats) et sont-elles mêmes conditionnées par l'environnement (Ostfeld et al., 2018, **Fig.6D**). La transmission entre les espèces hôtes et les populations humaines peut s'intensifier en raison de deux facteurs clés : la proximité spatiale, qui accroît l'exposition, en particulier lorsque les espèces cohabitent (Morand & Figuié, 2016), ainsi que la proximité génétique et physiologique, notamment avec les mammifères tels que les primates (Olival et al., 2017).

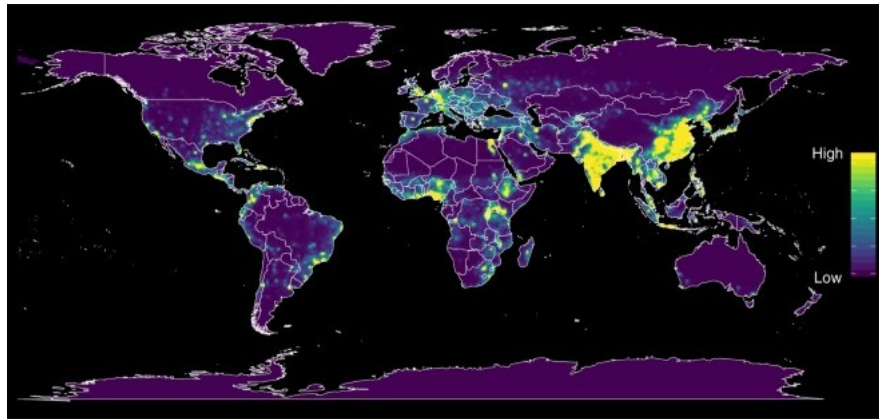


**Fig.6 A, B et C** provient de l'étude d'Ostfeld & Keesing (2022) et illustre que les zoonoses sont généralement transmises par des pathogènes ayant plusieurs hôtes. La Fig.6D est ajouté pour mettre en évidence l'existence de réseaux d'interactions complexes inter-hôtes, dépendant de l'environnement, ce qui souligne la fréquence élevée des transmissions inter-hôtes.

### C. Le rôle de l'anthropisation dans l'augmentation du risque d'émergence des zoonoses

Dans différentes régions du globe, notamment les zones à faibles latitudes comme les forêts tropicales, on montre une corrélation positive entre la biodiversité de la faune sauvage et le nombre de maladies émergentes (Allen et al., 2017; Jones et al., 2008; Morand & Lajaunie, 2017). Ces points chauds de biodiversité sont non seulement des zones à forte richesse en espèces animales et végétales, mais sont également associées à une forte diversité en micro-organismes (Guernier et al., 2004; Schipper et al., 2008).

Les points chauds de diversité n'expliquent cependant pas pour autant l'augmentation de l'émergence des maladies infectieuses ces dernières années pour un même effort de surveillance (Morand & Lajaunie, 2017). Plusieurs études ont montré une relation positive entre le nombre d'épidémies et l'impact anthropique (**Fig.7**), comme les changements d'usage des terres plus importants (Allen et al., 2017), la densité de population humaine (Jones et al., 2008) ou le nombre d'espèces menacées par pays (Asie du Sud-Est, Morand & Lajaunie, 2017).

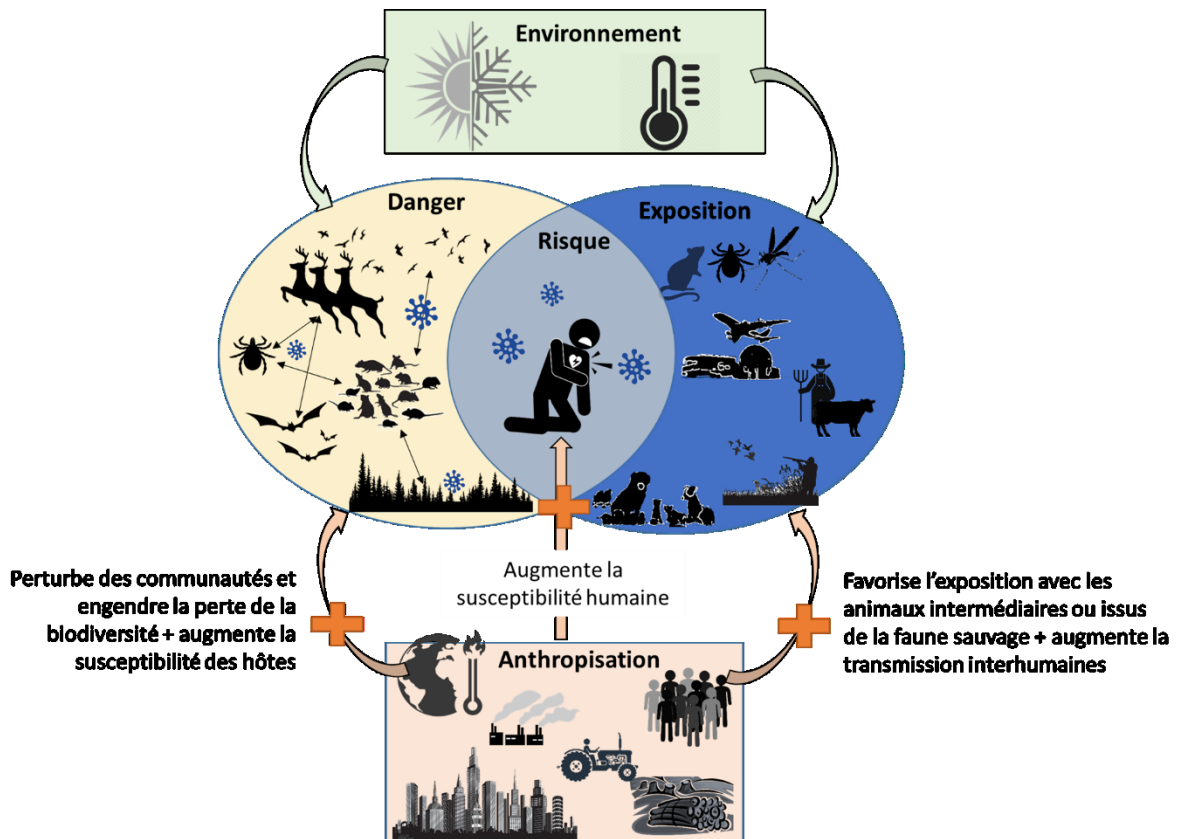


**Fig. 7.** Carte thermique de la distribution des risques relatifs prévus des événements d'émergence de maladies infectieuses de type zoonotique, issue de Allen et al.(2017).

Depuis les années 2000, les chercheurs ont averti que la perte de biodiversité et les pressions anthropiques conduisent à une augmentation des maladies émergentes (Daszak et al., 2000). Le changement d'usage des terres, particulièrement la déforestation, l'urbanisation et l'expansion de l'agriculture, seraient responsables de 30% des événements d'émergence des maladies infectieuses et le principal moteur de transmission des agents pathogènes de la faune aux humains (rapport de l'IPBES, Plowright et al., 2021).

L'augmentation de l'exposition de la faune sauvage et des animaux domestiques à la population humaine résulte en grande partie de la croissance démographique (**Fig.8**). Les activités humaines, telles que le tourisme, les loisirs en plein air, la chasse, l'agriculture, le commerce de la faune sauvage et la possession d'animaux de compagnie exotiques, contribuent davantage aux contacts entre humains, faune sauvage et animaux intermédiaires (Bezerra-Santos et al., 2021; Dufour, 2017). De plus, la densité humaine agit comme un amplificateur, exacerbé par la mondialisation et l'intensification des transports, ce qui augmente la probabilité de contact et facilite la propagation des pathogènes (Karesh et al., 2012).

Les changements d'utilisation des terres et le réchauffement climatique (Altizer et al., 2013; Baker et al., 2003; Karesh et al., 2012) augmentent aussi les chances de contacts entre la faune sauvage, les vecteurs et les populations humaines (**Fig.8**). Ces facteurs perturbent les animaux, induisant un stress qui entraîne une libération accrue d'excrétats (Plowright et al., 2021) et de comportements agressifs (Maréchal et al., 2011), ainsi que des modifications de mouvements et de répartition des espèces, les rapprochant davantage des zones habitées par les humains.



**Fig. 8.** Schéma illustrant les facteurs contribuant aux dangers zoonotiques, à l'exposition et, en conséquence, le risque d'émergence chez l'humain. L'environnement peut moduler ce risque selon les saisons et le climat, tandis que les facteurs anthropiques accentuent à la fois le danger zoonotique, l'exposition et la vulnérabilité des hôtes, augmentant le risque d'émergence.

D'autre part, ces mêmes facteurs anthropiques pourraient augmenter le danger zoonotique de façon à perturber la structure et la biodiversité des communautés (**Fig.8**). Les récentes méta-analyses sur les liens entre biodiversité et prévalence des pathogènes mettent en évidence que l'augmentation de ces émergences résulterait de l'érosion de la biodiversité dans les milieux naturels (Gibb et al., 2020; Halliday et al., 2020a; Felicia Keesing et al., 2010a; Rohr et al., 2020).

Les changements climatiques, la pollution et d'autres facteurs d'origine humaine qui impactent les hôtes et/ou les pathogènes en altérant leur reproduction, leur survie ou d'autres traits

écologiques et fonctionnels, ont le potentiel de modifier la relation hôte-pathogène. Cette modification peut entraîner des variations dans la susceptibilité des hôtes, y compris la faune sauvage et les humains. En conséquence, ces facteurs ont la capacité de modifier le niveau de danger zoonotique et la vulnérabilité des populations humaines, contribuant ainsi au risque d'émergence de maladies (Fig.8).

Au vu de l'intensification de l'anthropisation dans les années à venir, par l'expansion de la population humaine et la demande de ressources toujours plus élevée (White & Razgour, 2020), ainsi que des conséquences que cela engendre sur la biodiversité, la santé animale et humaine, il est primordial d'intégrer une approche « *One Health* » (Fig.9). Cette dernière vise à intégrer et unifier la santé publique, animale et environnementale, en particulier pour prendre en compte tous les éléments pouvant conduire à une menace d'émergence de maladies infectieuses (Cunningham et al., 2017a). Il devient primordial d'appliquer cette approche afin d'éviter une prochaine pandémie. Bien que ce concept ait été initié au début des années 2000, de nombreuses failles ont été mises en évidence dans la pratique (encadré 2), et la prévention, la surveillance et la gestion du risque zoonotique émergent restent des fronts de science en pleine effervescence.

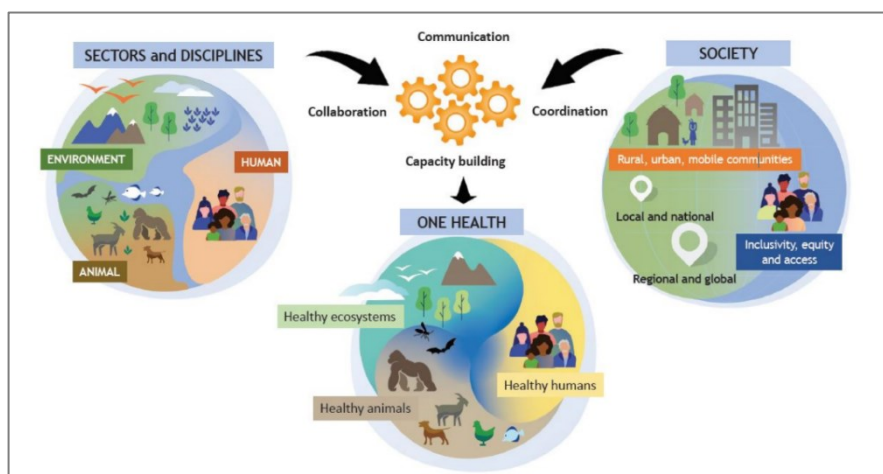


Fig 9. Figure tirée du groupe tripartite (FAO, OIE et OMS) et PNUE appelé - One Health High-Level Expert Panel – décrivant le principe ‘One Health’

Il est crucial de maintenir une surveillance constante de la propagation de divers pathogènes parmi différents hôtes, dans un environnement en évolution permanente et de plus en plus perturbé par les activités humaines. Dans cette optique, les approches de l'écologie des communautés pourraient être exploitées pour analyser les interactions complexes et les processus éco-évolutifs qui en découlent et influencent le danger zoonotique.



## Encadré 2 : Comment tirer des leçons de la pandémie du COVID-19

Jusqu'à présent, la recherche et la gestion des maladies se sont principalement concentrées sur la prévention de la propagation chez les êtres humains afin d'éviter les pandémies. Toutes les mesures politiques et de santé publique prises étaient réactives plutôt que proactives. Prenons l'exemple de la crise du COVID-19 : les actions entreprises étaient en réponse à l'apparition du virus, comprenant le développement ultérieur de vaccins, la création de méthodes de détection, la mise en place de traitements médicaux et même l'instauration de mesures de quarantaine visant à restreindre la propagation. Cependant, l'efficacité de ces approches pour contrer de nouvelles maladies émergentes peut être limitée ou nécessiter un certain temps pour être pleinement efficace dans la prévention de la propagation (Lefrançois et al., 2023).

Il est donc devenu impératif de prendre des mesures préventives plus solides et d'agir en amont. Pour atteindre cet objectif, il est essentiel de **mieux appréhender les mécanismes de transmission inter-espèces et les facteurs influençant l'émergence des pathogènes** (Lefrançois et al., 2023). Cela permettrait d'identifier et de contenir rapidement les risques zoonotiques avant qu'ils ne se propagent chez les êtres humains. Pour ce faire, nous recommandons la mise en place d'un **système d'alerte efficace et précoce à l'échelle locale** (Carroll et al., 2018), en renforçant les moyens de surveillance des pathogènes chez de multiples hôtes issus de la faune sauvage dans plusieurs contextes environnementaux (Carroll et al., 2018).

Bien que la collaboration scientifique interdisciplinaire se soit montrée essentielle pour être plus rapide et performant dans la découverte des mécanismes et des traitements, grâce notamment au partage des données et des connaissances (Brandell et al., 2020; Lefrançois et al., 2023), la crise du COVID-19 a mis en évidence un écart entre les décideurs politiques internationaux et la communauté scientifique. Cette lacune s'est manifestée par l'absence d'un modèle opérationnel d'alerte-décision basé sur la science et l'évaluation multidisciplinaire incluant les sciences sociales. Ce modèle aurait pu être mis en place dès les débuts de la pandémie, en adoptant de manière rigoureuse le concept One Health (Lefrançois et al., 2023). Dans cette optique, nous recommandons fortement une communication et une collaboration renforcées entre les chercheurs, les responsables politiques (Lefrançois et al., 2023), les représentants des secteurs publics et les médias (Hammes et al., 2021). En renforçant cette collaboration, il devient possible de mieux coordonner les processus décisionnels et de les communiquer de manière plus efficace, avec pour objectif de garantir à tous un accès équitable aux soins et de prévenir la propagation (**Fig.9**).

## II. Apport de l'écologie des communautés à la compréhension de la circulation des pathogènes chez les hôtes

### A. La biodiversité des communautés d'hôtes peut réguler la circulation des pathogènes

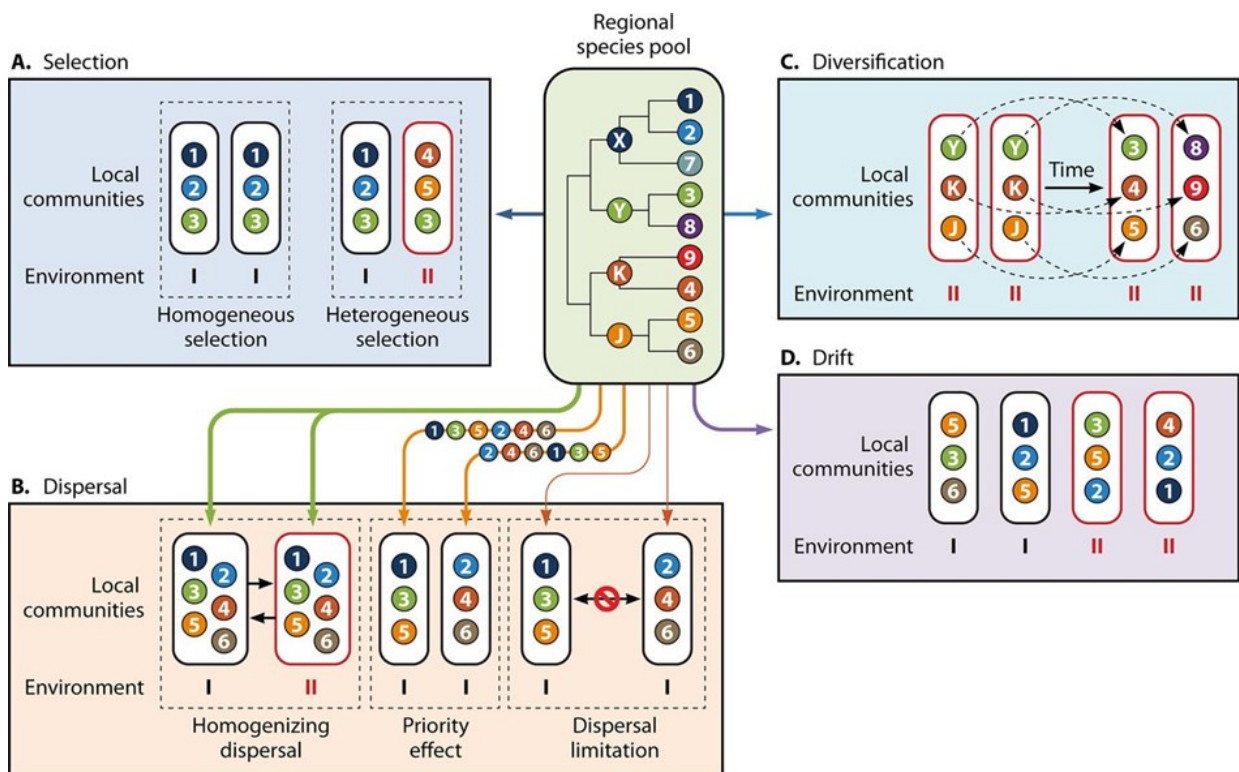
Malgré la connaissance de l'impact de l'anthropisation sur l'augmentation des zoonoses émergentes et de la perte de biodiversité, il est intéressant de noter que ce n'est que récemment, au cours des trois dernières décennies, que l'intégration de l'étude de la biodiversité des espèces a commencé à être évaluée pour comprendre le danger zoonotique. Cette approche s'est avérée particulièrement pertinente, étant donné que l'hypothèse de l'effet de dilution, qui prédit une corrélation négative entre biodiversité des hôtes et circulation d'un pathogène (Keesing et al., 2006), a été démontrée dans divers systèmes hôtes-pathogènes. Par exemple, cette hypothèse a été validée dans le contexte du virus du Nil occidental et de la communauté d'hôtes aviaires (ex Swaddle & Calos, 2008), de la bactérie responsable de la maladie de Lyme et de la communauté de mammifères et d'oiseaux (par exemple LoGiudice et al., 2003), ainsi que dans les systèmes *hantavirus* et rongeurs (par exemple Khalil et al., 2014). De plus, malgré l'observation de patrons contraires, tels que l'amplification (corrélation positive entre biodiversité et prévalence d'un pathogène) ou absence de patrons significatifs (Keesing et al., 2006; Wood et al., 2014), plusieurs méta-analyses évaluant ces relations biodiversité-pathogènes (Civitello et al., 2015; Keesing et al., 2010; Magnusson et al., 2020; Ostfeld & Keesing, 2012) ont conclu que la majorité des études empiriques sont en faveur d'un effet de dilution. La biodiversité peut donc jouer un rôle protecteur contre la circulation des pathogènes (Keesing et al., 2006).

Cependant, ces méta-analyses ont fait l'objet de critiques multiples en raison de comparaisons non uniformes entre les études, introduisant des biais et des possibilités d'interprétations erronées (Halliday & Rohr, 2019; Randolph & Dobson, 2012; Salkeld et al., 2013; Wood & Lafferty, 2013). De plus, d'autres études ont montré que la relation entre la diversité et les zoonoses pourrait dépendre du contexte environnemental (Halliday & Rohr, 2019; X. Liu et al., 2020), notamment de l'échelle spatiale considérée (Halliday et al., 2020).

Au cours du siècle dernier, la biodiversité et la structure des communautés d'espèces ont été largement étudiées dans divers écosystèmes et à différentes échelles temporelles et spatiales (Zhou & Ning, 2017). Cette connaissance a conduit à l'élaboration de concepts (**encadré 3**), qui



permettent une meilleure compréhension de l'impact de facteurs perturbateurs et une mise en œuvre de l'atténuation de ces impacts. Ceci est primordial pour la gestion durable des territoires et la préservation des espèces en déclin. Ainsi, l'application de ces cadres conceptuels et approches théoriques, notamment dans l'analyse des interactions complexes entre les communautés d'hôtes, les agents pathogènes et l'environnement, a permis d'obtenir une meilleure compréhension des mécanismes sous-tendant les relations biodiversité-santé (Johnson et al., 2015). Cette connaissance pourrait aboutir à la conception de stratégies de gestion des écosystèmes qui participent simultanément à la protection de la diversité biologique et à la limitation de la circulation des pathogènes (Hopkins et al., 2021). À terme, de telles études devraient contribuer à guider les gestionnaires de sites dans l'adoption de stratégies « gagnantes-gagnantes » pour la biodiversité et la santé publique (Hopkins et al., 2022).



**Fig.10.** Représentation schématique des processus d'assemblage (appliquée ici à la communauté microbienne mais pouvant s'appliquer à toutes communautés d'échelles hiérarchiques différentes). Les points de couleur et leur numéro représentent des espèces différentes. Figure de (Zhou & Ning, 2017).

### Encadré 3- Les processus écologiques responsables de l'assemblage des communautés d'espèces

L'écologie des communautés étudie les processus écologiques à l'origine de l'assemblage des groupes d'espèces (Chesson, 2003; Hubbell, 2001). Chaque communauté d'espèce se caractérise par sa composition en espèces, leur abondance relative et leur diversité au sein d'un écosystème donné. Les processus impliqués dans la structuration des communautés sont divers (**Fig. 10**) :

Les facteurs déterministes, incluant les facteurs abiotiques tels que la température, le pH et les perturbations anthropiques, ainsi que les facteurs biotiques qui correspondent aux interactions entre les espèces agissent comme des filtres en sélectionnant des espèces se distinguant par leur traits écologiques et fonctionnels (Chase & Myers, 2011; Fargione et al., 2003). Les interactions inter-espèces peuvent varier selon un gradient, allant d'effets positifs comme la coopération et la symbiose à des effets négatifs tels que la prédation, le parasitisme et la compétition. Seules les espèces capables de vivre dans des conditions déterminées par ces facteurs peuvent s'établir, également connues sous le nom de niche écologique (Wiens et al., 2010). Plus précisément, les facteurs environnementaux sélectionnent les espèces possédant des traits écologiques et fonctionnels qui leur permettent de prospérer dans ces conditions. Entre différentes communautés, les facteurs peuvent opérer de la même manière pour sélectionner les espèces (**Fig.10A**), comme observé dans les communautés urbaines homogènes (sélection homogénéisante). En revanche, certaines pressions peuvent opérer de manière à générer des différences de composition entre les communautés (sélection hétérogène) (Zhou & Ning, 2017b).

Plusieurs facteurs stochastiques peuvent modifier la composition des espèces, tels que la spécialisation/diversification, la dispersion et la dérive, de sorte qu'ils assemblent la communauté de façon imprévisible (Chase & Myers, 2011). La spéciation concerne l'évolution et la diversification des espèces au fil du temps (**Fig.10B**). La dispersion renvoie à leur déplacement et répartition dans un écosystème. Les espèces peuvent co-occure par hasard, résultant en une dispersion homogénéisante (**Fig.10C**). Des barrières physiques ou des limitations de déplacement peuvent entraîner une dispersion limitante. Les priorités des espèces pré-établies ou natives influencent également les dispersions futures (**Fig.10C**). Enfin, la dérive explique les assemblages communautaires par des événements aléatoires, tels que des facteurs environnementaux (inondations, tempêtes, incendies) et démographiques (mortalités et naissances aléatoires, dynamique des populations, dérive génétique) (**Fig.10D**) (Zhou & Ning, 2017b).

Ces facteurs agissent simultanément et à différents niveaux d'échelles hiérarchiques, spatiales et temporelles (Chase & Myers, 2011; Dumbrell et al., 2009) (**Fig. 11**). Leur détermination et leur quantification restent un défi (Stegen et al., 2013).

## B. Les mécanismes de la relation biodiversité - circulation des pathogènes

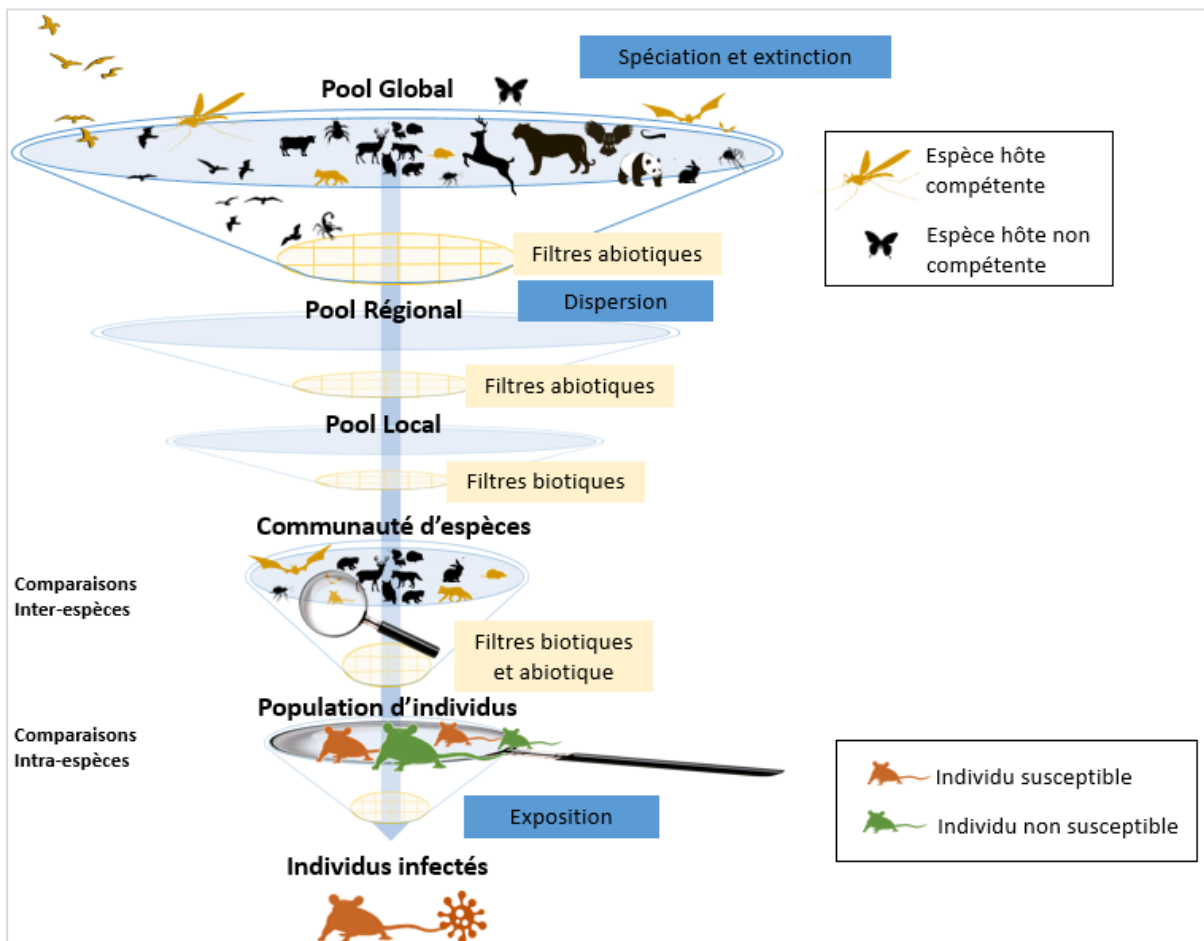
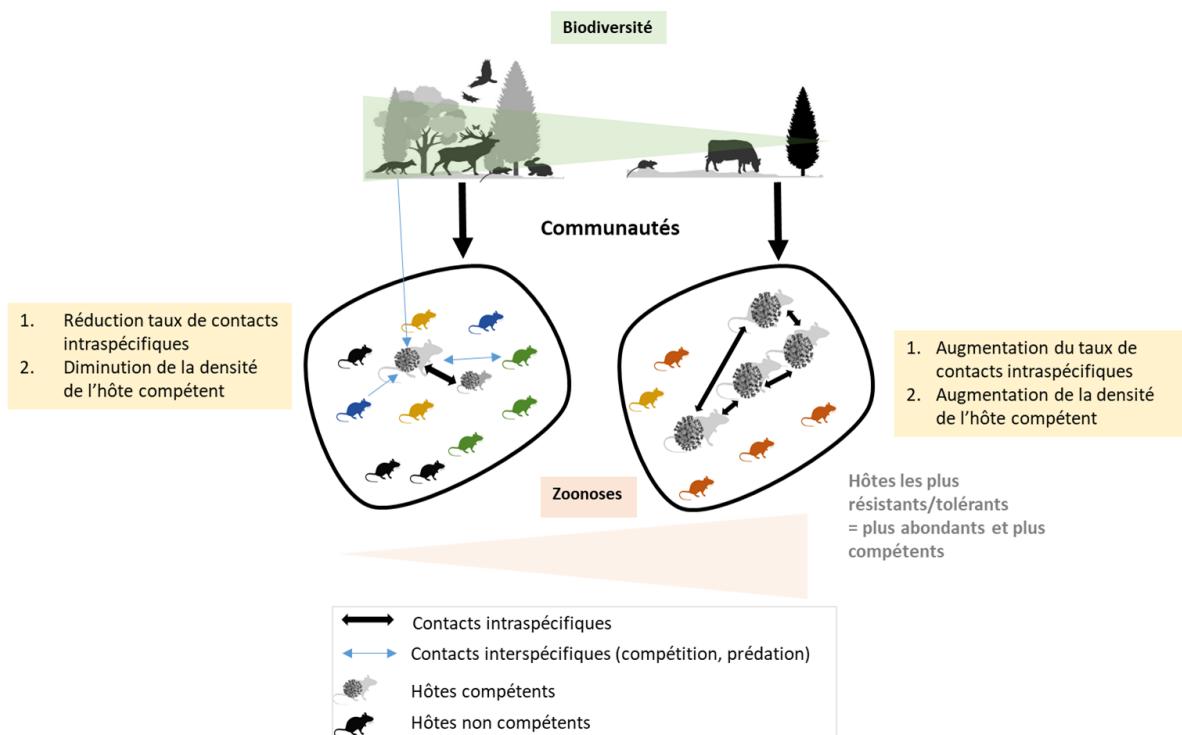


Fig.11. Schéma conceptuel de la hiérarchie écologique appliquée à l'épidémiologie selon les types d'hôtes, inspiré de Johnson et al., (2015) et Keddy & Laughlin (2021).

L'intégration des concepts de l'écologie des communautés (**encadré 3**) a permis de combler certaines lacunes dans notre compréhension des mécanismes sous-tendant les interactions entre la biodiversité et les agents pathogènes (Johnson et al., 2015). Premièrement, chaque espèce et chaque individu présentent des caractéristiques propres (traits phénotypiques, fonctionnels, immunitaires) résultantes de processus de spéciation (**Fig. 10 et 11**). D'un point de vue épidémiologique, les espèces se distinguent dans leur aptitude à héberger et à transmettre un agent pathogène spécifique, ce qui est communément appelé « compétence » (Huang et al., 2016) (**Fig. 11**). Au sein d'une espèce, les individus varient dans leur susceptibilité face aux pathogènes, en raison de différences génétiques et phénotypiques (physiologiques, immunitaires, comportementales...). Ces différences de traits influencent la valeur sélective des individus et la capacité des espèces à subsister, en fonction de filtres biotiques (comme la prédation, la compétition, le parasitisme, la coopération) et abiotiques (comme la température, le pH) (**Fig. 11**).

Ainsi, la composition des communautés évolue en termes d'abondance relative et de présence d'espèces hôtes présentant des niveaux variés de compétence, ainsi que d'individus ayant des degrés divers de susceptibilité.

**Les facteurs biotiques** peuvent modifier les interactions entre les espèces hôtes plus ou moins compétentes ou entre les individus plus ou moins sensibles (Keesing et al., 2010). En se basant sur ce principe, deux mécanismes principaux peuvent entraîner un effet de dilution. Premièrement, des communautés d'hôtes plus diversifiées peuvent inclure des espèces moins compétentes pour un pathogène donné, ce qui réduit le taux de contact intra-spécifique des espèces hôtes les plus compétentes, et par conséquent entraîne la réduction de la prévalence de ce pathogène. Deuxièmement, le mécanisme de "régulation de l'hôte sensible" est observé lorsque la biodiversité augmente et entraîne indirectement la réduction de prévalence des pathogènes en réduisant la densité de l'hôte compétent (Yates et al., 2002), notamment via des processus écologiques de prédation et de compétition (Khalil et al., 2016) (**Fig.12**). Ainsi la présence d'espèces clés comme des prédateurs interagissant avec les espèces compétentes peut être tout aussi importante à considérer (ex. Khalil et al., 2016; Ostfeld et al., 2018).



**Fig.12.** Schéma illustrant les mécanismes observés au sein d'une communauté d'espèces d'hôtes compétentes (représentées par le symbole du virus et de couleur grise) et non compétentes (autres couleurs) lors d'un effet de dilution provoqué par l'augmentation de la diversité et la diminution de la prévalence des pathogènes. Les flèches noires symbolisent les interactions intraspécifiques et bleues interspécifiques.

**Les facteurs abiotiques** comme la disponibilité des ressources, les nutriments et caractéristiques du sol (pH), la température, la pluviométrie, le pourcentage d'humidité, l'altitude ... peuvent également modifier la composition en espèces hôtes compétentes et individus hôtes sensibles d'une communauté. Ces facteurs peuvent par exemple augmenter la compétence de la communauté en favorisant les espèces les plus compétentes (Halliday et al., 2021; Salkeld et al., 2013). Ainsi, les changements climatiques ont le potentiel de modifier la distribution des vecteurs et des espèces hôtes compétentes (ex des chauves-souris, Booth, 2018). L'abondance des espèces hôtes compétentes comme les rongeurs peut varier au fil du temps, dues à des cycles de dynamique des populations naturelles liés à la disponibilité des ressources (Altizer et al., 2006). Par exemple, un accroissement de la disponibilité de graines peut entraîner la prolifération des populations de souris deux années plus tard, entraînant ainsi une élévation de la prévalence de la bactérie *Borrelia*, à l'origine de la maladie de Lyme. (Ostfeld et al., 2018).

Ces changements entraînent des effets à plus ou moins long terme et à des niveaux divers de l'organisation écologique (González-Varo et al., 2013). En plus de la variation de la composition en espèces, ces changements abiotiques ont la capacité d'altérer la valeur sélective d'un hôte, notamment via des impacts sur le système immunitaire, le rendant ainsi plus susceptible face aux agents pathogènes. Par exemple, il a été montré que l'exposition à des insecticides pouvait réduire la performance des abeilles, entraînant alors une infection aux pathogènes (González-Varo et al., 2013).

Enfin ces facteurs abiotiques peuvent également modifier les interactions biotiques préexistantes (Dunson & Travis, 1991). Par exemple, lorsque la disponibilité des ressources s'amointrit, la compétition augmente ou modifie la structure du réseau trophique (Frelat et al., 2022).

### C. Les conséquences de l'anthropisation sur l'assemblage des communautés d'hôtes

L'effet dilution s'observe presque systématiquement lorsqu'on inclut des écosystèmes où les pertes de biodiversité sont d'origine anthropique et non naturelle (Gibb et al., 2020; Halliday et al., 2020).

Cela s'explique par le fait que les perturbations anthropiques entraînent des changements prévisibles dans l'assemblage des communautés. Les espèces hôtes les plus compétentes ont généralement une capacité accrue à se maintenir au sein d'écosystèmes perturbés (Ostfeld &

LoGiudice, 2003). Inversement, les espèces les moins compétentes sont moins aptes à s'adapter à de telles pressions et risquent l'extinction. L'anthropisation s'accompagne donc d'une réduction de la biodiversité et d'une augmentation de l'abondance des espèces compétentes. La capacité d'adaptation de ces dernières faces aux perturbations s'explique par leurs traits d'histoire de vie liés à un cycle de vie « rapide », caractérisés par de petites tailles, une courte durée de vie et des densités de population importantes (Gibb et al., 2020; Johnson et al., 2020; Plourde et al., 2017). Cette stratégie leur permet d'atteindre des taux de croissance rapides et des capacités de colonisation accrues, bien que cela se fasse au détriment d'une défense immunitaire moins spécifique (Plourde et al., 2017). Les espèces les plus abondantes et compétentes sont favorisées dans les milieux perturbés et entraînent de surcroît une augmentation du risque d'émergence (Keesing & Ostfeld, 2021).

Ainsi, ces connaissances sur la composition des communautés et la compétence des espèces participent à la compréhension du risque de futures émergences de maladies zoonotiques (ex des zoonoses transmises par les rongeurs, Han et al., 2015).

**L'écologie des communautés a permis de mieux comprendre les liens entre biodiversité des communautés d'hôtes et la prévalence d'un pathogène. Cependant, il est important de noter que ces espèces peuvent héberger plusieurs pathogènes simultanément, et que ceux-ci peuvent également interagir. Pour mieux appréhender la circulation des pathogènes au sein d'un hôte, il devient crucial d'analyser les mécanismes opérant à l'échelle des micro-organismes.**



### III. Contribution de l'écologie des communautés microbiennes dans la compréhension de la circulation des pathogènes.



Fig. 13. Illustrations de la prévalence omniprésente des micro-organismes, prenant des formes variées capables de former des communautés et des réseaux d'interactions. ©Midjourney

#### A. Écologie des communautés microbiennes

Grâce aux nouvelles techniques de séquençage, il est désormais possible d'étudier la biodiversité des micro-organismes d'un individu (par exemple, Jonge et al., 2022; Galan et al., 2016b; Titcomb et al., 2019). Les estimations pour un adulte humain moyen révèlent la présence d'environ 30,000 milliards de cellules humaines et près de 38,000 milliards de bactéries dans le corps (Sender et al., 2016). Le virome humain se révèle également vaste et complexe, avec environ 10 trillions ( $10^{13}$ ) de particules par individu (Liang & Bushman, 2021).

En conséquence, un individu peut être perçu comme un écosystème à part entière, défini comme un holobionte : constitué à la fois de ses propres cellules et de son microbiote commensal et infectieux (bactéries, virus, champignons, helminthes)(Simon et al., 2019). L'utilisation de l'écologie des communautés est crucial pour comprendre comment les micro-organismes s'assemblent au sein des hôtes (Johnson et al., 2015).

Le microbiote bactérien intestinal (ci-après nommé microbiote intestinal) est une des communautés microbiennes les mieux décrites et étudiées chez les mammifères. Ce microbiote est soumis aux mêmes processus écologiques que ceux observés au sein des communautés d'hôtes (ou macro-communautés) (Zhou & Ning, 2017)(**Fig.14**).

De nombreuses preuves indiquent que l'environnement de l'hôte peut agir comme un filtre abiotique en exerçant une influence sur la structure et la composition du microbiote intestinal, parmi lequel on compte notamment le pH intestinal, la concentration en oxygène ou le régime alimentaire (ex chez la souris, Wang et al., 2014). La saisonnalité (Maurice, Cl Knowles, et al., 2015), les facteurs climatiques et la géographie (Goertz et al., 2019; West et al., 2019) modulent également en permanence ce microbiote (Alberdi et al., 2016).

De la même façon, différents facteurs abiotiques ont un impact direct sur la présence des pathogènes, favorisant leur survie et leur propagation dans l'environnement (Engering et al., 2013) ou dans leurs vecteurs (Mora et al., 2022), et peuvent même altérer leurs taux de réplication (Roberts & Heesterbeek, 2018).

En plus des filtres environnementaux, les micro-organismes sont également soumis aux contraintes biotiques imposées par l'hôte (**Fig.14**). Dans le cas des micro-organismes commensaux, on observe une phylosymbiose, où la composition microbienne se ressemble davantage entre individus étroitement liés sur le plan phylogénétique (Ley et al., 2008). Cette similarité découle de la concordance entre l'histoire évolutive des espèces hôtes et les structures de communautés de leurs microbiotes associés (Brooks, Kohl, Brucker, Opstal, et al., 2016; Kohl, 2020).

De plus, la composition des communautés de micro-organismes (commensaux ou pathogènes) dépend des caractéristiques de l'hôte, telles que la génétique, la physiologie, le comportement ou encore le groupe fonctionnel (âge, maturité sexuelle, sexe) (Bonder et al., 2016; Santoro et al., 2017) (**Fig 14**).



Par ailleurs, les micro-organismes forment des communautés fonctionnelles au sein d'un organe de l'hôte, et leur composition dépend également des interactions biotiques, c'est-à-dire des interactions qui peuvent exister entre eux (Zhou & Ning, 2017). Des phénomènes de compétition pour les ressources ou l'espace, ainsi que des processus de facilitation, peuvent être observés, ce qui façonne des profils variés de co-occurrence (ou co-infection pour les pathogènes, Telfer et al., 2010).

Les effets stochastiques peuvent également jouer un rôle dans l'assemblage des communautés de micro-organismes (**Fig 14**, Zhou & Ning, 2017). En plus de leurs traits écologiques distinctifs, les espèces hôtes développent souvent des habitudes de vie communes, notamment à travers leur alimentation. Cela peut entraîner une dispersion uniforme des micro-organismes entre les hôtes de la même espèce, renforçant ainsi le phénomène de phyllosymbiose (Kevin D. Kohl, 2020). Par exemple, les souris vivant en cohabitation ont tendance à présenter des populations bactériennes intestinales similaires (Campbell et al. 2012). En revanche, lorsque les hôtes sont isolés par des barrières écologiques ou occupent des habitats différents, leurs populations de micro-organismes sont plus susceptibles de présenter des différences marquées dues aux effets de dispersion limitante. De plus, les assemblages microbiens pourraient également résulter d'effets de priorité, ce qui signifie que les premiers colonisateurs ont plus de chance de s'établir de manière durable. Dans un contexte où les micro-organismes subissent des évolutions rapides avec des taux de mutation élevés, les mécanismes de spéciation et d'extinction pourraient être fréquents, tout comme les phénomènes de dérive (Zhou & Ning, 2017b).

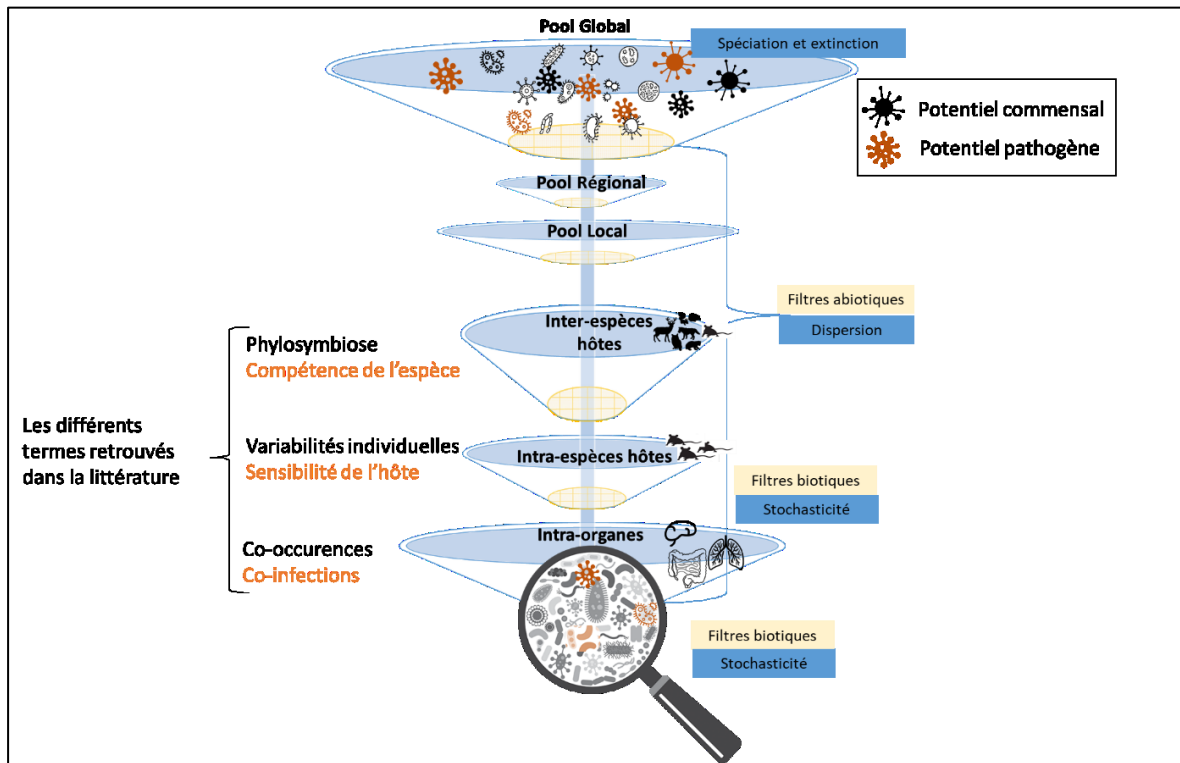


Fig. 14. Schéma conceptuel de la hiérarchie écologique appliquée aux micro-organismes selon les types de micro-organismes, inspiré de Johnson et al., (2015) et Keddy & Laughlin (2021).

## B. Le rôle du microbiote intestinal dans l'adaptation de l'hôte

Le microbiote intestinal façonne le phénotype de son hôte en fournissant des services essentiels qui contribuent à sa santé (Shapira, 2016), notamment en jouant un rôle dans le système immunitaire (Belkaid & Hand, 2014), le système nerveux (Ochoa-Repáraz & Kasper, 2016) et le métabolisme (Rowland et al., 2017). Ces fonctions essentielles sont maintenues de manière stable, ce qui signifie qu'elles restent assurées malgré les fluctuations éventuelles de la composition taxonomique du microbiote. Ceci illustre l'homéostasie.

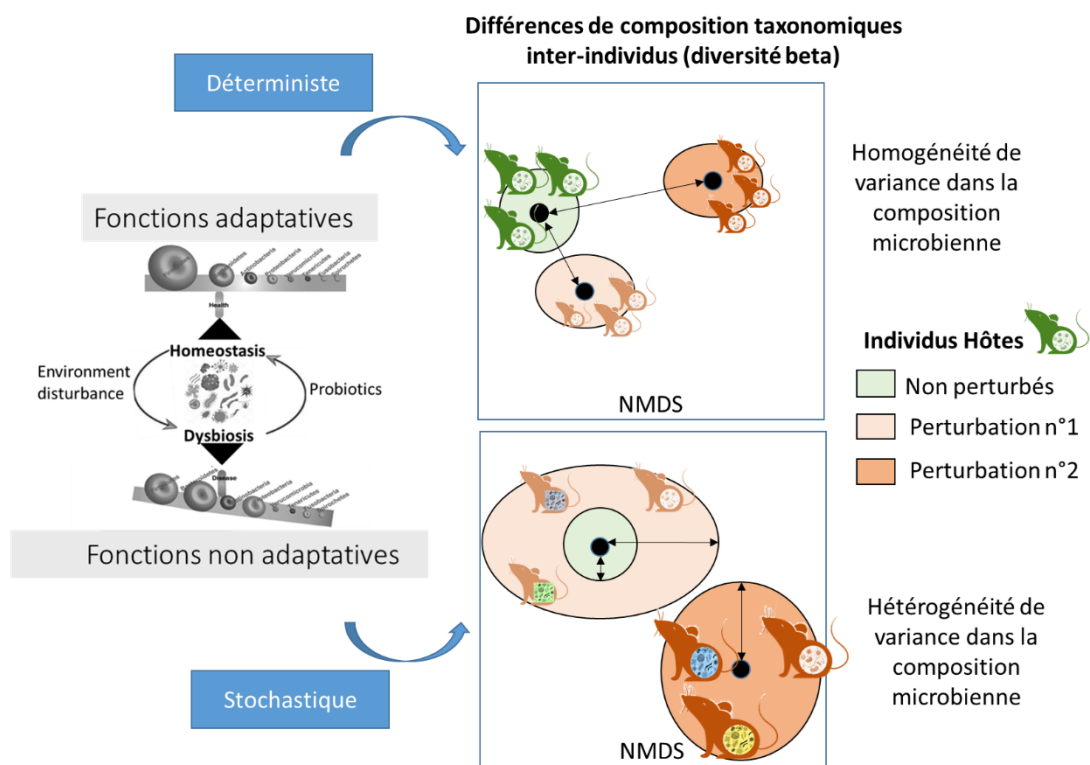
Une caractéristique du microbiote intestinal est sa flexibilité, c'est-à-dire sa capacité à modifier rapidement sa composition (Voolstra & Ziegler, 2020). Les modifications de la composition taxonomique du microbiote intestinal, en réponse aux facteurs biotiques ou abiotiques, peuvent demeurer neutres pour l'hôte, dans la mesure où différents taxons peuvent exécuter les mêmes fonctions essentielles. Ce phénomène, appelé redondance fonctionnelle, confère à l'hôte une résilience face aux perturbations. Concrètement, si différents taxons peuvent accomplir une fonction identique, la disparition d'un taxon aura un impact limité sur l'état de l'hôte, puisque la fonction pourra être remplie par un/d'autres taxons (Moya & Ferrer, 2016b). En revanche, dans les situations de "dépendance évolutive" hôte-symbiote sans redondance

fonctionnelle, l'extinction d'un taxon bactérien en réponse aux conditions environnementales par exemple entraînera la perte de la fonction, et potentiellement, la mort de l'hôte (Moeller & Sanders, 2020).

Les modifications de la composition du microbiote intestinal peuvent avoir un effet positif pour l'hôte. Ainsi, le microbiote intestinal pourrait jouer un rôle crucial dans l'adaptation ou l'acclimatation de son hôte à un nouvel environnement ou à de nouvelles conditions biotiques et abiotiques, en fournissant de nouvelles fonctions bénéfiques pour ce dernier (**Fig.15**, Alberdi et al., 2016; Moeller & Sanders, 2020). Les individus porteurs de ces taxons assurant ces fonctions adaptatives seront sélectionnés (**Fig.15**). Par exemple, un microbiote favorisant un métabolisme élevé peut favoriser un rythme de vie rapide chez son hôte et donc sa capacité à coloniser rapidement un nouveau territoire (Macke et al., 2017). Un microbiote intestinal permettant de digérer des aliments normalement inaccessibles grâce à des processus de détoxification par exemple, peut favoriser la survie de l'hôte dans de nouvelles niches. Ces fonctions liées au régime alimentaire pourraient être à l'origine d'une innovation majeure dans l'évolution des mammifères, notamment vers un régime herbivore (Moeller & Sanders, 2020). Le microbiote intestinal peut également permettre à l'hôte de s'adapter via des modifications du comportement ou l'acquisition d'une tolérance à des conditions environnementales extrêmes (Liu et al., 2021; Suzuki, 2017).

Enfin, lorsque les modifications de la composition du microbiote intestinal entraînent une perte de certaines fonctions essentielles ou une inadéquation entre les fonctions réalisées versus celles nécessaires, cela a des impacts négatifs sur l'hôte, pouvant aller jusqu'à l'extinction de certaines espèces hôtes. Les pressions anthropiques qui affectent la biodiversité (ex des changements d'usage des terres, Barelli et al., 2015, des contaminations environnementales, des changements climatiques...) peuvent avoir des répercussions fortes sur la composition et les fonctions assurées par le microbiote intestinal. Plusieurs études soulignent que les perturbations anthropiques induisent un changement de diversité accompagné d'une plus grande hétérogénéité dans la variance compositionnelle microbienne de l'hôte (**Fig. 15**, Fackelmann, Gillingham, et al., 2021; Lavrinienko et al., 2021; Wilkins et al., 2019; Zaneveld et al., 2017). Le principe d'Anna Karénine a été proposé pour expliquer ce modèle : tous les microbiotes sains et équilibrés sont similaires, tandis que les microbiotes perturbés sont tous différents (**Fig.15**, Zaneveld et al., 2017). Ces modifications s'accompagnent d'une perturbation

de l'homéostasie microbienne, connue sous le nom de dysbiose. Elle reflète des processus stochastiques, c'est-à-dire des changements aléatoires dans l'apparition ou la disparition de taxons bactériens, qui modifient la structure globale du microbiote. Cela peut conduire à une dérégulation de la réponse immunitaire et du métabolisme (Nyangale et al., 2012). La dysbiose est associée à de nombreuses maladies chroniques chez l'humain, telles que le diabète de type 2 (Everard & Cani, 2013) ou l'obésité (Boulangé et al., 2016). Dans les villes, l'augmentation du nombre de cas d'asthme et d'allergies serait liée à ce phénomène de dysbiose, qui transparait via la diminution de la diversité du microbiote intestinal (Hanski et al., 2012).



**Fig.15.** Schéma conceptuel illustrant en partie supérieure des changements adaptatifs conduisant à des modifications de la composition taxonomique sélectionnée, aboutissant à un microbiote identique pour tous les individus. En bas, une perturbation entraîne une variance considérable, où chaque individu possède un microbiote radicalement différent en raison de changements taxonomiques stochastiques.

### C. Le rôle du microbiote intestinal sur la sensibilité de l'hôte aux pathogènes

Le microbiote intestinal influence la sensibilité des hôtes aux pathogènes i) via ses liens avec le système immunitaire de l'hôte et ii) via des interactions biotiques directes avec les pathogènes.

D'une part, le microbiote intestinal possède la capacité d'agir en tant que système de défense immunitaire innée contre les infections intestinales. Il peut entraver la colonisation locale par des pathogènes, en établissant des barrières physiques face aux infections, via la formation de biofilms protecteurs des muqueuses (Kamada et al., 2013). De plus, il peut prévenir la prolifération de parasites et d'autres agents pathogènes en renforçant l'immunité de l'hôte (McKenney et al., 2018) ou en libérant des substances métaboliques compétitives toxiques pour les pathogènes, comme des bactériocines ou des toxines protéiques (Leung et al., 2018).

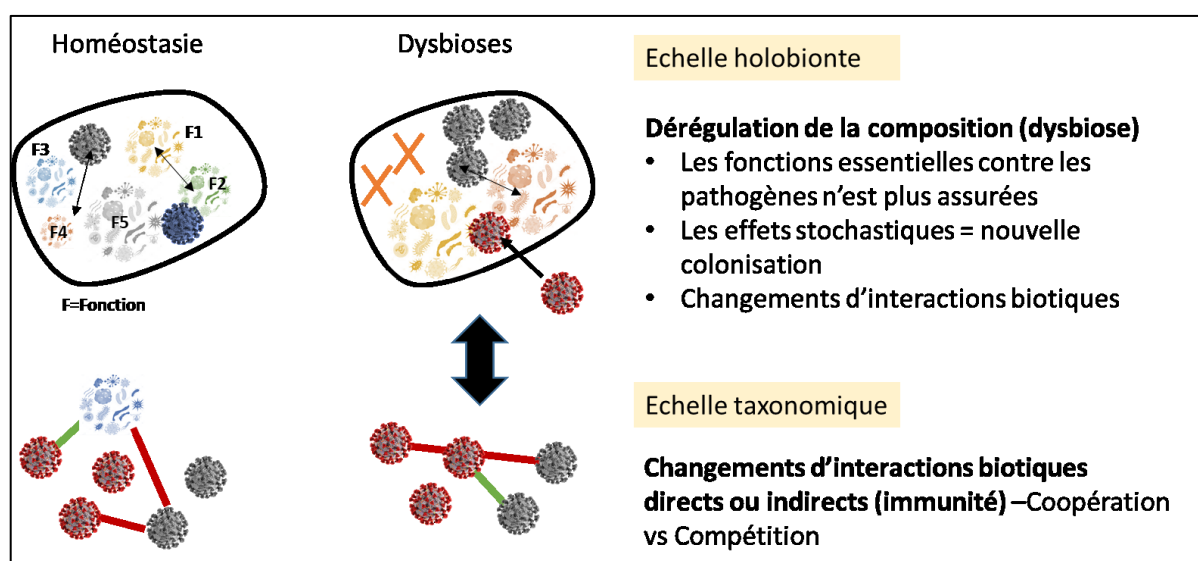


Fig.16 Schéma conceptuel qui illustre les modifications de la composition microbienne résultant d'une dérégulation, ainsi que les altérations des interactions biotiques (indiquées en rouge pour les interactions négatives et en vert pour les interactions positives). Ces changements ont le potentiel d'influencer tous deux l'apparition de pathogènes.

La perturbation du microbiote intestinal est souvent associée à une plus grande vulnérabilité aux bactéries pathogènes. Cette association est observée pour diverses espèces hôtes, invertébrés et vertébrés (Belkaid & Hand, 2014; Engel et al., 2012; Kamada et al., 2013). Dans de telles situations, les fonctions de barrière ou de régulation sont compromises. Cette altération du microbiote entraîne un déclin de la santé de l'hôte, affaiblissant notamment son système immunitaire et augmentant sa susceptibilité aux pathogènes.

De plus, un microbiote perturbé est davantage sujet à des processus stochastiques, conformément au principe d'Anna Karénine (Zaneveld et al., 2017). Dans de tels cas, l'assemblage du microbiote échappe à toute règle, ce qui peut entraîner l'établissement et/ou la prolifération de micro-organismes potentiellement pathogènes.

D'autre part, les micro-organismes interagissent de façon complexe au sein des hôtes (Vayssier-Taussat et al., 2014). Dans la littérature scientifique, les interactions entre les bactéries commensales intestinales et les parasites sont largement étudiées, notamment chez les helminthes (Kreisinger et al., 2015; Williams et al., 2015). Ces interactions peuvent être de nature négative, résultant de mécanismes de compétition ou d'antagonisme ; positives grâce à des mécanismes de facilitation, ou neutres. La compétition se manifeste lorsque différents micro-organismes rivalisent pour accéder à des ressources limitées à l'intérieur de l'hôte (Griffiths et al., 2014; Pinky & Dobrovolny, 2016).

La facilitation peut se manifester de plusieurs manières. D'une part, par la production directe de molécules bénéfiques partagées (West & Buckling, 2003) et, d'autre part, de manière indirecte en altérant la physiologie ou l'immunité de l'hôte (Abraham et al., 2017).

Dans ce contexte, de nombreuses initiatives visent à exploiter les bactéries commensales pour combattre les pathogènes, en particulier chez les humains grâce à l'utilisation de probiotiques (Rueda-Robles et al., 2022). De plus, il est également envisagé d'intervenir directement sur le microbiote des vecteurs de pathogènes tels que les arthropodes. Cette approche peut empêcher la colonisation de virus zoonotiques en exploitant les avantages d'une bactérie commensale comme *Wolbachia* (Walker et al., 2011; Walker & Moreira, 2011).

**Le microbiote pourrait jouer un rôle important dans la circulation des pathogènes, en influençant son hôte ou en influençant les interactions intra-hôtes entre les pathogènes. Les petits mammifères constituent un modèle d'étude exceptionnel pour explorer cette dynamique complexe entre communautés d'hôtes et micro-organismes commensaux et pathogènes, et mieux comprendre l'impact de ces interactions sur les risques d'émergences zoonotiques.**

#### IV. Le modèle d'étude : Les petits mammifères terrestres forestiers

##### A. La menace de l'anthropisation des forêts et des milieux boisés sur les communautés de petits mammifères et le risque d'émergence

Les forêts constituent des points chauds de biodiversité et fournissent de multiples services écosystémiques. Elles sont aujourd'hui menacées comme en attestent la déforestation, l'intensification de l'exploitation forestière et l'impact des changements climatiques sur les essences forestières (Combe et al., 2019; Karesh et al., 2012).

En outre les forêts abritent de nombreuses espèces, dont des petits mammifères terrestres. Ces derniers constituent un groupe taxonomique caractérisé par leur petite taille. Il regroupe l'ordre des *Rodentia* et le groupe des insectivores, notamment les ordres des Erinaceomorphes (hérisson) et Soricomorphes (musaraignes et taupes) (Poitevin & Quéré, 2021). Certaines sont généralistes mais d'autres sont spécialisées à certaines conditions environnementales, ce qui font d'elles des espèces très sensibles aux perturbations anthropiques (Fischer et al., 2015). Ces espèces font face à un risque d'extinction (Barnosky et al., 2011; Montgomery et al., 2015), comme en témoignent les observations en Amérique (Droghini et al., 2022; Kelt & Meserve, 2014), en Europe (Coomber et al., 2021) ou dans les îles (Harris, 2009). Une telle disparition peut être dramatique, compte tenu du rôle primordial que ces espèces jouent dans les écosystèmes forestiers. Par exemple, elles participent à la chaîne alimentaire, contribuent à la dispersion des graines et jouent un rôle crucial dans le cycle des nutriments (Fischer et al., 2018). Certaines espèces sont devenues des espèces emblématiques et appréciées à protéger (espèces phares comme les écureuils roux), mais d'autres espèces forestières méconnues du grand public pourraient être tout aussi importantes en biologie de la conservation

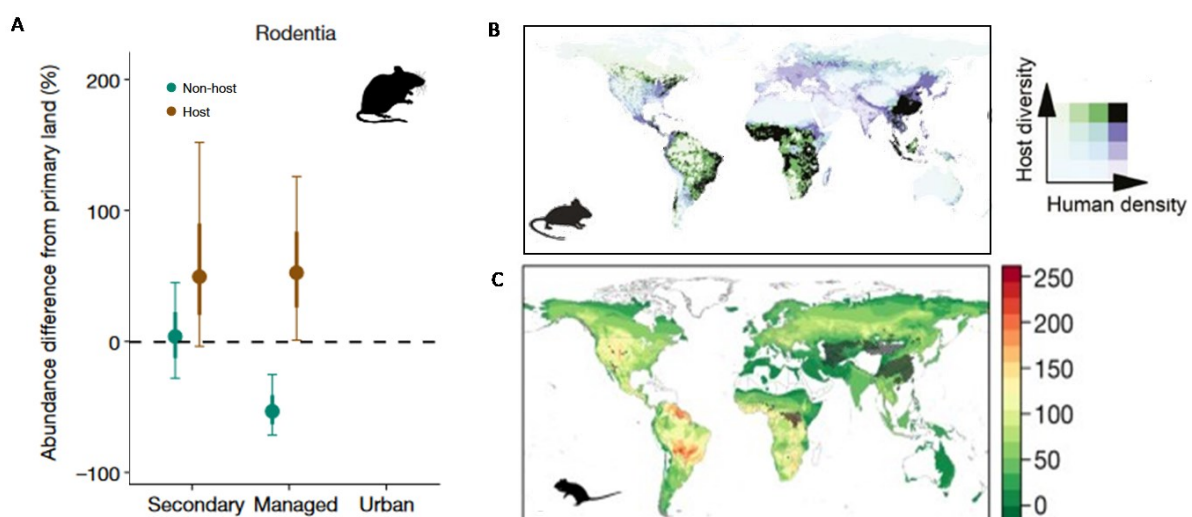
À l'opposé, certaines espèces profitent de ces perturbations anthropiques pour envahir les forêts exploitées (Harris, 2009), au détriment des espèces natives. Elles peuvent également s'adapter et envahir les zones boisées des parcs urbains, où se trouve une abondance de nourriture laissée par les humains et où les pressions biotiques telles que la prédation et la compétition sont relâchées (Lowry et al., 2013; Werner & Nunn, 2020a). Certaines d'entre elles sont considérées comme des nuisibles, ravageurs de culture comme les campagnols des champs, d'autres comme des espèces synanthropes ou commensales (Hulme-Beaman et al., 2016) avec des densités élevées dans les parcs urbains ou espaces verts (Šálek et al., 2015) comme les rats ou les souris (Hulme-Beaman et al., 2016). Ces derniers peuvent entraîner des



coûts économiques importants, causer par la dégradation des infrastructures ou des récoltes (Almeida et al., 2013).

Or cette composition des communautés de petits mammifères forestiers peut avoir des implications sur le danger et le risque zoonotique. Deux récentes méta-analyses de Gibb et al. (2020) et Mendoza et al. (2019) mettent en évidence l'impact de l'anthropisation du milieu sur la composition des communautés d'hôtes rongeurs, avec une abondance d'espèces hôtes compétentes plus importante dans les sites soumis à une utilisation humaine importante (écosystèmes modifiés, agricoles et urbains) par rapport aux habitats voisins non perturbés (**Fig.17A**). A l'inverse, les espèces de rongeurs vulnérables (IUCN) étaient très peu représentées dans les milieux urbains (Johnson et al., 2020).

Fort de ces connaissances écologiques, il est désormais envisagé de prédire le risque de futures émergences de maladies transmises par certains petits mammifères terrestres, notamment les rongeurs (Allen et al., 2017b; Dharmarajan et al., 2022; Han et al., 2015; Olival et al., 2017b)(**Fig.17BC**). Les méta-analyses récentes peuvent montrer des résultats variables, probablement du fait que ces études sont menées à l'échelle mondiale mais s'appuient sur des données encore très parcellaires (**Fig.19BC**).



**Fig.17.** A. Effets de l'utilisation des sols sur l'abondance des espèces de rongeurs hôtes (marron) et non-hôtes (vert) de zoonoses (Gibb et al., 2020). Cartes géographiques de prédiction du risque d'émergence de maladies zoonotiques issues de la transmission des rongeurs en se basant sur B. la diversité des hôtes compétents et la densité humaine dans la zone (Dharmarajan et al., 2022) ou C. la proportion de virus zoonotiques par espèce, la parenté phylogénétique, la taxonomie de l'hôte et la densité humaine (Olival et al., 2017)

Il est encore nécessaire, pour améliorer ces prédictions du danger zoonotique, de réaliser des études empiriques permettant d'acquérir des connaissances sur la biodiversité des petits mammifères terrestres et de leurs micro-organismes, dans différents écosystèmes avec des degrés d'anthropisation contrastés, et de mettre ces données à disposition dans des bases de données mondiales.

B. Les petits mammifères terrestres, une communauté diversifiée pouvant abriter de nombreux micro-organismes

De part leur grande diversité les petits mammifères constituent une des principales menaces zoonotiques (Fig.18).

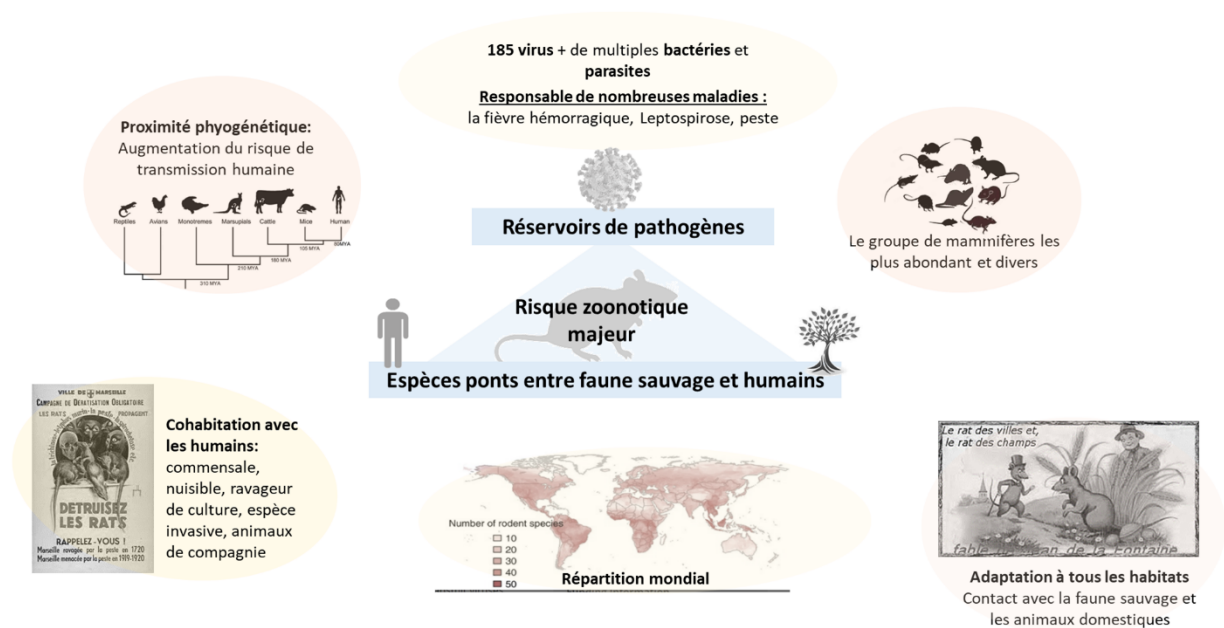


Fig.18 – Schéma illustrant les divers facteurs expliquant le risque zoonotique majeur associé aux rongeurs.

De façon proportionnelle, on observe que 61 % des virus zoonotiques sont véhiculés par l'ordre des *Rodentia*, octroyant ainsi à ce groupe taxonomique le statut de détenteur du plus grand nombre de virus parmi l'ensemble des taxons inclus (Johnson et al., 2020b). Ils possèdent également de nombreuses bactéries, champignons, helminthes et protozoaires (Han et al., 2015), pouvant être responsables de nombreuses zoonoses (**encadré 4**). Cette corrélation découle en partie de la relation positive entre le nombre d'espèces au sein d'un ordre et la richesse de pathogènes zoonotiques qu'ils peuvent abriter (Han et al., 2015; Johnson et al.,

2020). Or, les rongeurs, constituent l'ordre de mammifères le plus diversifié (représentant 40 % des espèces) (**Fig.18**) (Olival et al., 2017a).

Les petits mammifères terrestres peuvent être associés à un risque zoonotique important en raison de leur proximité génétique et physiologique avec les humains (Olival et al., 2017a), et de leur capacité à agir en tant qu'espèces 'pont' entre la faune sauvage, la faune domestique et les humains (**Fig.18**).

En effet, leurs traits d'histoire de vie peuvent être associés à un cycle de vie rapide leur permettant de coloniser tous les habitats aussi bien forestiers qu'urbains sur tous les continents (Churakov et al., 2010; Luis et al., 2015). D'autre part, ils peuvent atteindre des densités de population très importantes, favorisant la probabilité de contacts directs avec l'humain, les animaux domestiques et les zones de stockage alimentaire (Schell et al., 2021a). De plus, ces contacts sont fréquents car de nombreuses espèces de petits mammifères cohabitent avec les êtres humains (**Fig.18**). Ils sont présents dans divers milieux anthropisés tels que les champs agricoles, les habitats résidentiels, les zones urbaines et les environnements forestiers. De plus, ces animaux interagissent fréquemment, en particulier lors des périodes de compétition intense pour les ressources (Salgado et al., 2022). Les comportements agressifs qui en résultent peuvent entraîner la libération de liquides tels que la salive et l'urine, favorisant la transmission de certains pathogènes. Ainsi, des études de réseaux d'interactions ont mis en évidence le rôle central de certains petits mammifères terrestres (rongeurs) dans la transmission de virus entre différents ordres d'hôtes, qu'ils soient sauvages ou domestiques, ainsi que dans la transmission de virus aux êtres humains (**Fig.19**, Johnson et al., 2020).

Compte tenu de leur biodiversité, de leurs rôles dans le fonctionnement des écosystèmes et de leur forte capacité de réservoirs d'agents zoonotiques, il est essentiel d'avoir une bonne connaissance de l'écologie de ces communautés de petits mammifères terrestres, et d'établir une surveillance des pathogènes qu'ils peuvent véhiculer. Ce sont donc des modèles biologiques très pertinents pour étudier la possibilité de mettre en place des stratégies gagnant-gagnant pour la biodiversité et la santé publique ou vétérinaire.

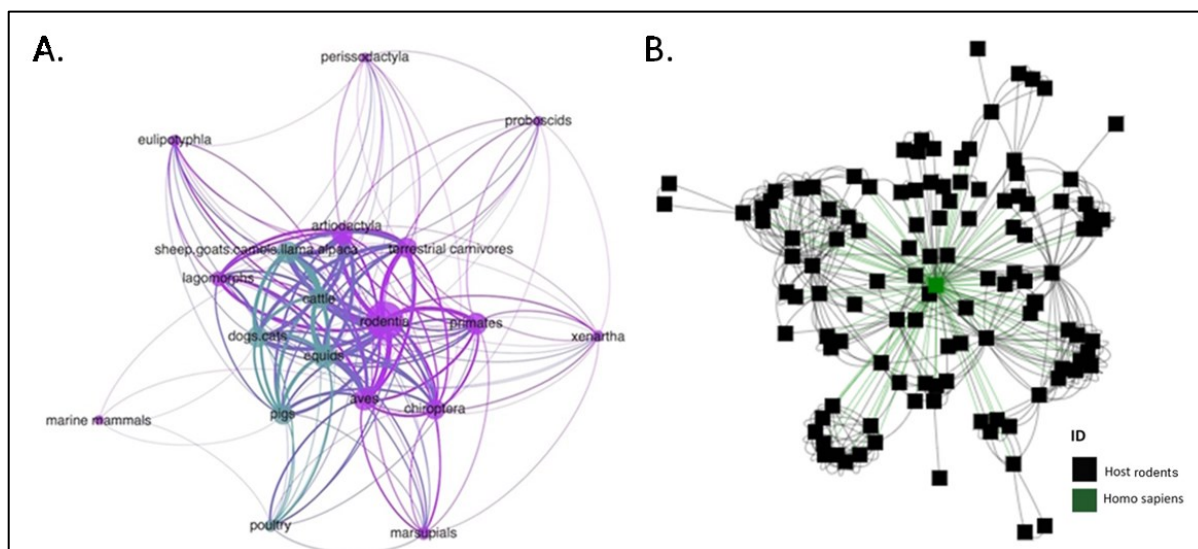


Fig. 19. Carte du réseau de partage de virus zoonotiques entre A. des hôtes animaux sauvages (violet) et domestiques (vert) (Johnson et al., 2015), B. les hôtes rongeurs (noir) et les êtres humains (vert) (Nieto-Rabiela et al., 2019).

#### Encadré 4: les agents zoonotiques transmis par les rongeurs

Les rongeurs sont à l'origine de 66 zoonoses selon Han et al. (2015). Parmi ces zoonoses, la leptospirose cause 1,03 millions de cas annuels dans le monde, entraînant 58 900 décès (Costa et al., 2015). Les hantaviruses provoquent une fièvre hémorragique avec un syndrome rénal (HFRS) en Eurasie ou un syndrome cardiopulmonaire à hantavirus (HCPS) dans les Amériques (Moore & Griffen, 2023). La fièvre de Lassa, causée par un Mammarenavirus, entraîne 5,000 à 10,000 morts chaque année en Afrique (Fichet-Calvet & Rogers, 2009). Ces pathogènes sont directement transmis de certaines espèces hôtes rongeurs aux humains.

En tant que réservoirs, les rongeurs sont intégrés dans un réseau complexe d'interactions inter-hôtes et peuvent jouer un rôle central dans la circulation des pathogènes (Fig.19). Par exemple, dans le cas de la maladie de Lyme, les rongeurs sont un des principaux hôtes des tiques porteuses des bactéries du genre *Borrelia*, agents pathogènes de cette maladie, pouvant causer des dommages neurologiques chez l'humain. Ces bactéries sont ensuite transmises par les tiques (Ostfeld et al., 2006). Une autre maladie emblématique impliquant les rongeurs et une puce comme vecteur est la peste, qui subsiste dans certaines régions et demeure endémique à Madagascar (Alderson et al., 2020). De nombreux pathogènes présents chez les rongeurs se propagent de manière indirecte par le biais d'animaux domestiques, incluant les bactéries (responsable par exemple de la bartonellose, la tularémie), les virus (responsables par exemple de la fièvre de la vallée du Rift, la fièvre hémorragique de Crimée-Congo, la chorioméningite lymphocytaire), ainsi que divers parasites responsables de maladies telles que la toxoplasmose, la leishmaniose et l'échinococcose (Meerburg et al., 2009).

### C. L'implication du microbiote intestinal des petits mammifères dans la circulation des pathogènes

L'étude du microbiote intestinal ouvre de nouvelles pistes de recherche sur les maladies zoonotiques liées aux petits mammifères.

En particulier, le microbiote intestinal des rongeurs a fait l'objet d'études approfondies, incluant des expérimentations en laboratoire, qui offrent aujourd'hui une bonne description de cette communauté microbienne et de son fonctionnement. Les taxons et les fonctions liés à ce microbiote sont bien caractérisés, mais cette connaissance est biaisée vers certains animaux de laboratoire, en particulier les souris (Lesker et al., 2020). Il est important de noter que ces connaissances peuvent différer si l'on considère ces animaux dans la nature. En effet, la plupart des études réalisées sur des animaux en captivité ont montré des perturbations microbiennes, voire une dysbiose, avec des différences de composition fortes par rapport à ce qui est observé dans la nature (par exemple, Martínez-Mota et al., 2020). Explorer le microbiote des petits mammifères sauvages est désormais crucial pour mieux comprendre son rôle dans la biologie et l'évolution de l'hôte (Hird, 2017), et son impact sur la circulation des agents zoonotiques.

Ces dernières années, plusieurs études se sont intéressées à la diversité et composition du microbiote intestinal de rongeurs sauvages, dans différents contextes environnementaux. Il a été montré que le microbiote intestinal diffère en fonction de la phylogénie des espèces hôtes (phylosymbiose) (Knowles et al., 2019; Weinstein et al., 2021). De plus, ces études montrent une variation de la diversité et de la structure du microbiote intestinal des rongeurs en fonction de l'environnement et des pressions anthropiques, comme la fragmentation du paysage (Fackelmann, Gillingham, et al., 2021), l'exposition à des polluants (Brila et al., 2021) ou à la radioactivité (Lavrinenko et al., 2018). L'hypothèse du microbiote intestinal pouvant être un trait favorisant l'adaptation ou le maintien des espèces de petits mammifères en réponse à l'anthropisation du milieu reste cependant largement inexplorée (Moeller & Sanders, 2020).

Enfin, de nombreuses études ont mis en évidence des modifications de la diversité et de la composition du microbiote intestinal des petits mammifères associées à des infections, en laboratoire ou en nature. Ces recherches concernent tous les types de pathogènes, notamment les bactéries (ex *Helicobacter pylori*, Dash et al., 2019; Brila et al., 2023), les helminthes (ex Kreisinger et al., 2015; *Trichinella spiralis*, Liu et al., 2021), les virus (ex. Xiang et al., 2019) ou encore les protozoaires (ex. Hatter et al., 2018).

Ces études mettent en lumière les conséquences en cascade de l'anthropisation, en particulier des milieux forestiers, sur les communautés de petits mammifères, et leurs communautés de micro-organismes commensaux et pathogènes. A ce jour, ces relations sont souvent analysées par un prisme simplifié (uniquement les communautés d'hôtes, uniquement le microbiote intestinal, uniquement les interactions entre deux compartiments : hôtes-pathogènes ou hôtes-microbiote intestinal). Or les interactions sont complexes et multipartites, ce qui nécessite de les appréhender en prenant en compte l'ensemble des compartiments : milieux, hôtes, micro-organismes pathogènes et commensaux. C'est cette compréhension globale qui permettra de mieux évaluer et prédire le danger zoonotique inhérent aux changements globaux.

#### V. Objectifs scientifiques de la thèse

Le principal objectif de ma thèse était de mieux comprendre le danger zoonotique en prenant en compte divers pathogènes au sein de différentes espèces de petits mammifères forestiers le long d'un gradient d'anthropisation.

Nous avons vu précédemment que l'anthropisation peut avoir des répercussions sur la biodiversité à différents niveaux biologiques, aussi bien au niveau des communautés de petits mammifères que des micro-organismes qu'ils hébergent. De plus, nous avons décrit dans les paragraphes précédents les conséquences des modifications de la biodiversité sur la sensibilité des hôtes aux pathogènes. Par conséquent, j'aborde ces deux niveaux de complexité dans ma thèse pour mieux comprendre les liens entre Biodiversité et Santé et les mécanismes sous-jacents à ces liens (**Fig. 20**).

Pour ce faire, nous avons analysé les communautés de petits mammifères terrestres dans des milieux forestiers de degrés d'anthropisation contrastés, en échantillonnant des réserves naturelles, des forêts gérées, ainsi que des espaces boisés urbains, en France.

Des approches empirique et théorique ont été combinées pour analyser les interactions complexes entre l'environnement, les hôtes, le microbiote intestinal et les pathogènes, afin de parvenir à une compréhension approfondie de ce système (**Fig.20**).

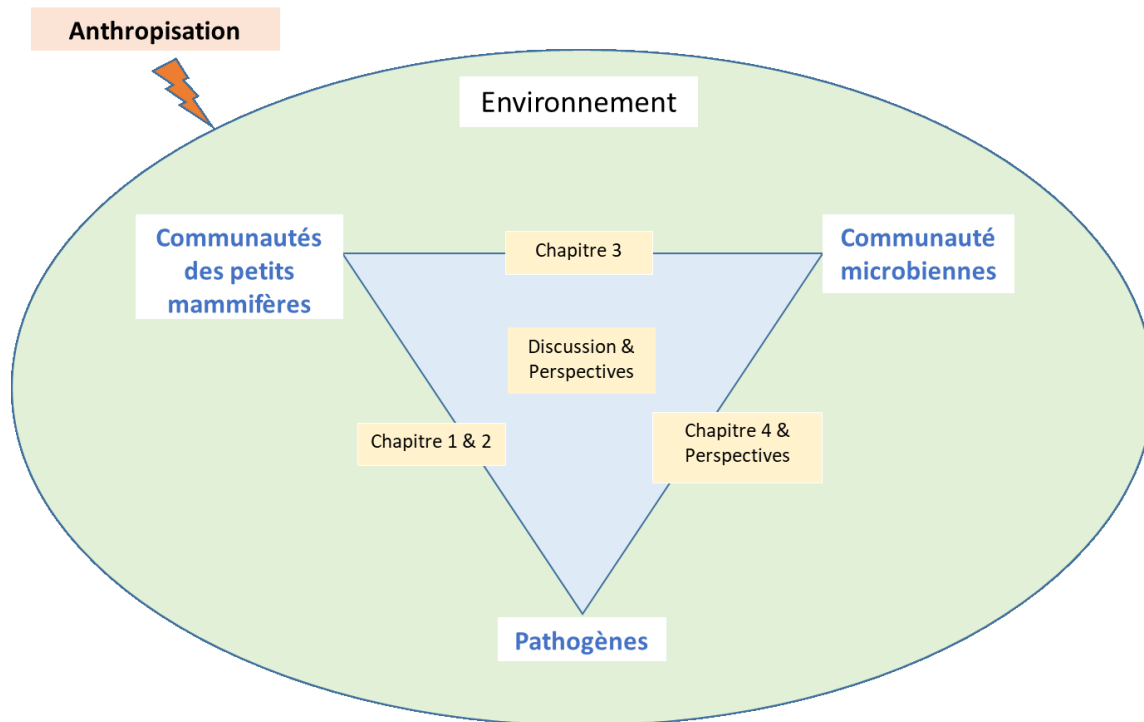


Fig. 20. Schéma conceptuel décrivant les différents liens étudiés dans chaque chapitre de thèse.

Les résultats de ce travail sont présentés dans quatre chapitres.

**Le chapitre 1** expose les méthodes d'étude ainsi que les caractéristiques multi-hôtes et multi-pathogènes identifiées à partir d'un échantillonnage réalisé sur 2.5 ans, le long du gradient d'anthropisation. Dans un premier temps, l'objectif est de fournir un aperçu technique et de discuter des défis rencontrés pour collecter ces données. Dans un second temps, il s'agit de présenter les résultats bruts pour souligner la biodiversité des hôtes et des pathogènes et rendre compte aux gestionnaires de site des dangers zoonotiques identifiés.

**Le chapitre 2** a pour objectif d'étudier les liens entre les communautés de petits mammifères et la circulation de plusieurs pathogènes, en complétant l'étude empirique, d'une étude théorique. Dans un premier temps, nous avons exploré l'impact de l'anthropisation sur les liens entre biodiversité des petits mammifères et la prévalence de multiples pathogènes. Nous nous attendions à avoir un effet dilution pour tous les pathogènes observés, expliqué par un plus grand nombre d'espèces abondantes et compétentes dans les environnements de faible biodiversité. Nous nous attendions à ce que des facteurs environnementaux aient un rôle sur la biodiversité des petits mammifères et sur les pathogènes, de sorte qu'ils modifient la relation biodiversité- prévalence des pathogènes.



Dans la partie théorique nous avons testé si l'abondance relative des espèces commensales plus abondantes et compétentes était le moteur de l'effet dilution. Nous avons réalisé des simulations d'un contexte épidémiologique similaire à nos données empiriques, dans lequel le pathogène Orthohantavirus SEOV était en circulation. Par la suite, nous avons procédé à l'évaluation de l'impact des méthodes de gestion, telle que la dératisation, sur la relation entre la biodiversité et la circulation du SEOV. Plus précisément, nous avons cherché à déterminer si cette approche pouvait être bénéfique en réduisant à la fois la circulation du SEOV tout en préservant la biodiversité des petits mammifères.

**Le chapitre 3** présente les variations spatio-temporelles du microbiote intestinal de différentes espèces de petits mammifères, le long d'un gradient d'urbanisation. Dans la première étude, nous examinons le microbiote intestinal d'une espèce de rongeurs, le mulot sylvestre *Apodemus sylvaticus*, pour décrire les variations de sa diversité et de sa composition microbienne. Dans la deuxième étude, nous considérons l'ensemble de la communauté de petits mammifères et explorons les variations du microbiote intestinal le long du gradient d'urbanisation. Ceci permet de tester l'influence relative de l'espèce hôte, de la catégorie de forêt et de l'interaction hôte x gradient sur les caractéristiques du microbiote intestinal. Des modèles sont développés pour déduire les processus écologiques sous-jacents (sélection versus stochasticité) aux patrons observés.

**Le chapitre 4** explore les liens entre le microbiote intestinal et diverses communautés de pathogènes. Pour ce faire, nous avons analysé les relations tripartites entre les communautés de bactéries intestinales commensales, les communautés de bactéries pathogènes et les communautés d'helminthes gastro-intestinaux chez une espèce, le campagnol roussâtre *Myodes* (syn. *Clethrionomys*) *glareolus*. Nous avons comparé différentes populations le long d'un gradient longitudinal Nord-Sud.

Enfin, une **discussion générale** permet de présenter une synthèse générale des résultats obtenus et de discuter des limites de cette étude. Des perspectives d'amélioration sont proposées afin de formuler des stratégies de suivis de la faune sauvage et des dangers/risques zoonotiques qui soient plus intégratives et permettent une meilleure surveillance, tout en suivant les recommandations liées au concept « One Health ».

# Chapitre 1. Présentation des méthodes d'étude et du système multi-hôtes multi-pathogènes

## I. Contexte

Il est désormais largement reconnu que prendre en compte la santé des hôtes et de l'environnement est crucial pour une meilleure compréhension de la circulation des pathogènes de type zoonotique, comme en témoigne le nombre croissant d'études basées sur les approches "One Health" ces dernières années (Destoumieux-Garzón et al., 2018). Cependant, les mécanismes sous-jacents qui régissent la dynamique des hôtes et de leurs agents pathogènes demeurent encore insuffisamment évalués *in natura*, et la surveillance des maladies dans la faune sauvage est un front de recherche en plein essor. Ces études requièrent l'analyse des caractéristiques environnementales ainsi que des connaissances sur l'écologie des hôtes et des pathogènes dans le temps et l'espace. Malheureusement, les méthodes utilisées dans ces recherches sont souvent contraignantes (Mazzamuto et al., 2022).

La logistique de l'échantillonnage sur le terrain présente des défis importants, limitant considérablement le nombre de répliques spatio-temporelles, et rendant les techniques d'échantillonnage souvent invasives et complexes, ce qui restreint le nombre d'individus pouvant être échantillonnés (Mazzamuto et al., 2022). Le suivi de la faune sauvage s'avère particulièrement ardu, car les connaissances initiales sont souvent biaisées en faveur d'espèces ayant un intérêt économique ou pour la santé (souvent liées), ce qui entraîne un manque de données sur les autres espèces (Stephenson et al., 2022). De plus, la susceptibilité des animaux aux agents pathogènes varie en fonction de caractéristiques individuelles telles que les groupes fonctionnels, la génétique, la physiologie, l'immunologie, etc., en raison de différences de sexe, d'âge, de maturité sexuelle et de conditions physiques (Henttonen, 2022). L'acquisition de ces paramètres, bien que déterminant pour comprendre la circulation des pathogènes, s'avère également complexe.

Malgré les améliorations dans les méthodes de diagnostic des pathogènes, de multiples compromis (financier, de temps, et matériels disponibles) doivent être faits dans le choix des méthodes entre la détection non ciblée de l'ensemble des agents via des méthodes de métabarcoding et des méthodes plus précises et ciblées pouvant détecter des pathogènes

spécifiques, ou encore des approches métagénomiques plus précises mais coûteuses et chronophages (Aladhadh, 2023).

Dans ce chapitre, nous nous concentrerons sur une description détaillée des méthodes utilisées pour collecter les données permettant de décrire les hôtes, pathogènes et leur environnement, en mettant en évidence les limites associées à ces méthodes. Nous présenterons les caractéristiques environnementales des sites d'études, les caractéristiques spécifiques des hôtes échantillonnés tant au niveau de l'espèce que des individus, ainsi que les caractéristiques des pathogènes diagnostiqués. Cette approche globale permet de décrire la présence de petits mammifères et de leurs pathogènes dans les forêts françaises étudiées, et sera utilisée tout au long des études présentées dans cette thèse.

Cette thèse ayant été au cœur d'un vaste projet ([https://www6.inrae.fr/biodiversa-bioroddis\\_fre/](https://www6.inrae.fr/biodiversa-bioroddis_fre/)) et ayant fait l'objet de nombreuses collaborations, je présenterai dans ce chapitre quelques méthodes et données précises sur les pathogènes détectés, obtenues grâce à ces partenariats. Ces études soulignent l'importance cruciale de la collaboration et du partage de travail dans la recherche, que ce soit dans la collecte des données, les analyses de détection moléculaire ou les analyses statistiques. Renforcer la collaboration pourrait, à l'avenir, permettre d'acquérir une vision plus exhaustive de l'écosystème hôte-pathogène-environnement.

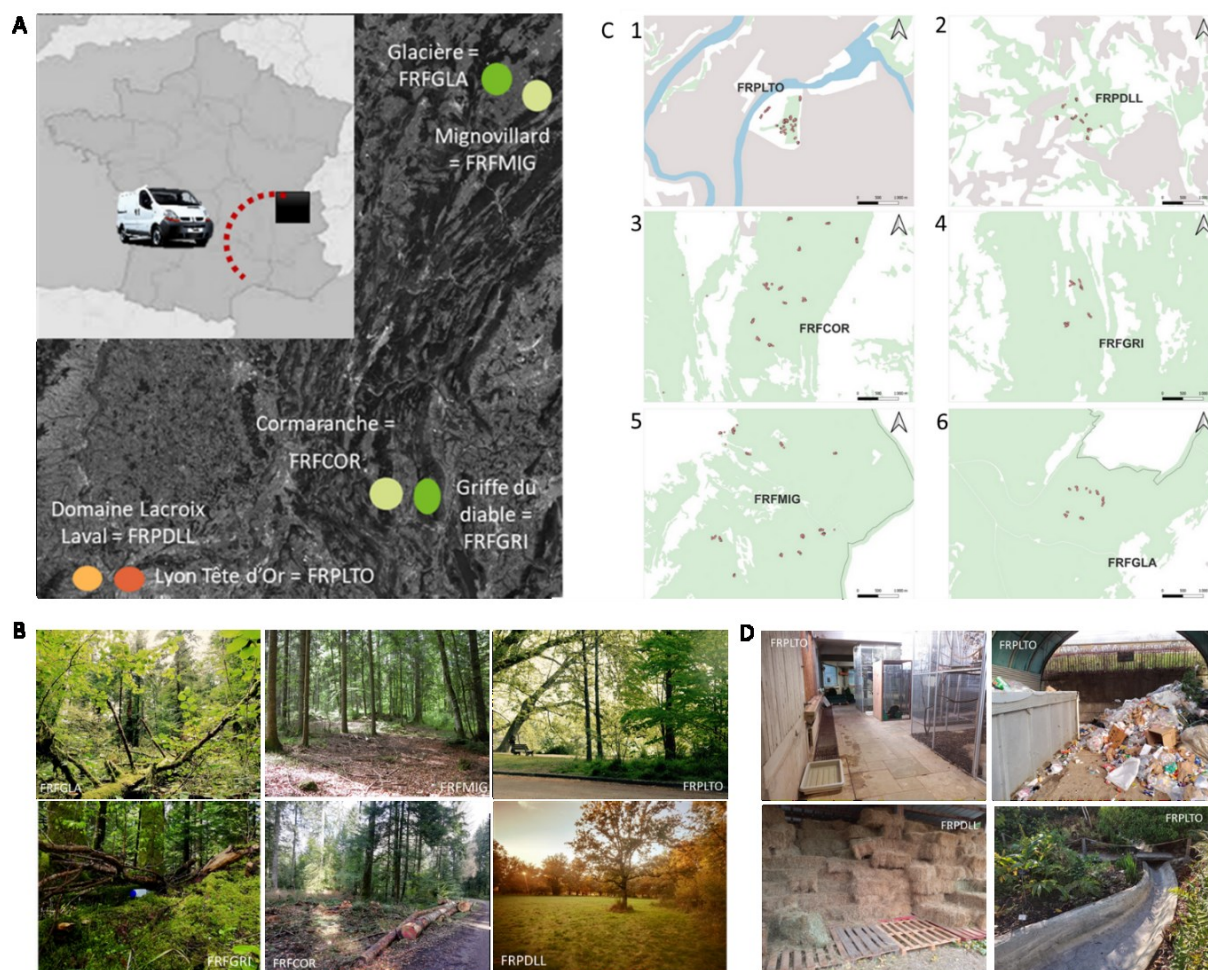
## II. Caractérisation environnementale des sites d'études

**Note** : Le data paper de Pradel, Bouilloud, (...), Charbonnel et al., 2022 (Biodiversity Data Journal 10: e95214, disponible sur : <https://doi.org/10.3897/BDJ.10.e95214>), fournit une description détaillée de l'ensemble du matériel et des méthodes utilisés, ainsi que des données brutes associées. Il offre des précisions supplémentaires sur le plan d'échantillonnage, les relevés de succès de piégeage et les caractéristiques individuelles, qui viendront compléter les informations que je présenterai ci-dessous.

### A. Localisation et contexte des sites d'étude

Les communautés de petits mammifères terrestres ont été échantillonnées dans six sites, répartis selon un gradient d'anthropisation forestier incluant des réserves biologiques intégrales (RBI), des forêts gérées par l'Office National des Forêts (ONF) et des milieux boisés dans des parcs urbains. Deux répliques sont inclus pour chaque catégorie : deux RBI, deux forêts exploitées dans le Jura et l'Ain et deux parcs urbains à Lyon (**Fig. 1A**, Pradel et al., 2022). Cependant, ces 'répliques' peuvent différer de par leurs caractéristiques abiotiques (différences d'altitude, de latitude, de climat, d'usage des sols) et biotiques (essences).

Les RBIs étudiées (FRFGRI= Griffes du diable et FRFGLA= Glacière, Photos **Fig. 1B**) sont des zones protégées non exploitées depuis plus de 150 ans (excepté par des coupes sanitaires), offrant des refuges pour la faune et la flore. Ainsi ces zones bénéficient d'un cycle sylvigénétique plus complet que les autres forêts. Outre un apport nutritionnel, les arbres laissés au sol pourraient créer des habitats pour les petits mammifères (Lachat et al., 2019). Les forêts exploitées sélectionnées pour notre étude (FRFCOR= Cormaranche en Bugey et FRFMIG= Mignovillard, Photos **Fig. 1B**) sont en expansion depuis la déprise agricole du 19ème siècle. Elles peuvent être entourées de routes et de terres agricoles, ce qui favorise leur fragmentation. En plus de leur exploitation économique, les forêts sélectionnées font l'objet d'une régénération artificielle, ce qui peut potentiellement conduire à une réduction de la diversité (Rajora, 1999). Enfin, les parcs urbains dans le Rhône (FRPDLL= Domaine Lacroix Laval et FRLTO = La Tête d'Or, Photos **Fig. 1B**) sont constitués d'espaces boisés ou de forêts fragmentées, visitées et gérées, pouvant aller jusqu'au jardinage et à la gestion de plantations artificielles ou exotiques (Silvestre, 2021). De plus, de nombreuses infrastructures y sont construites.

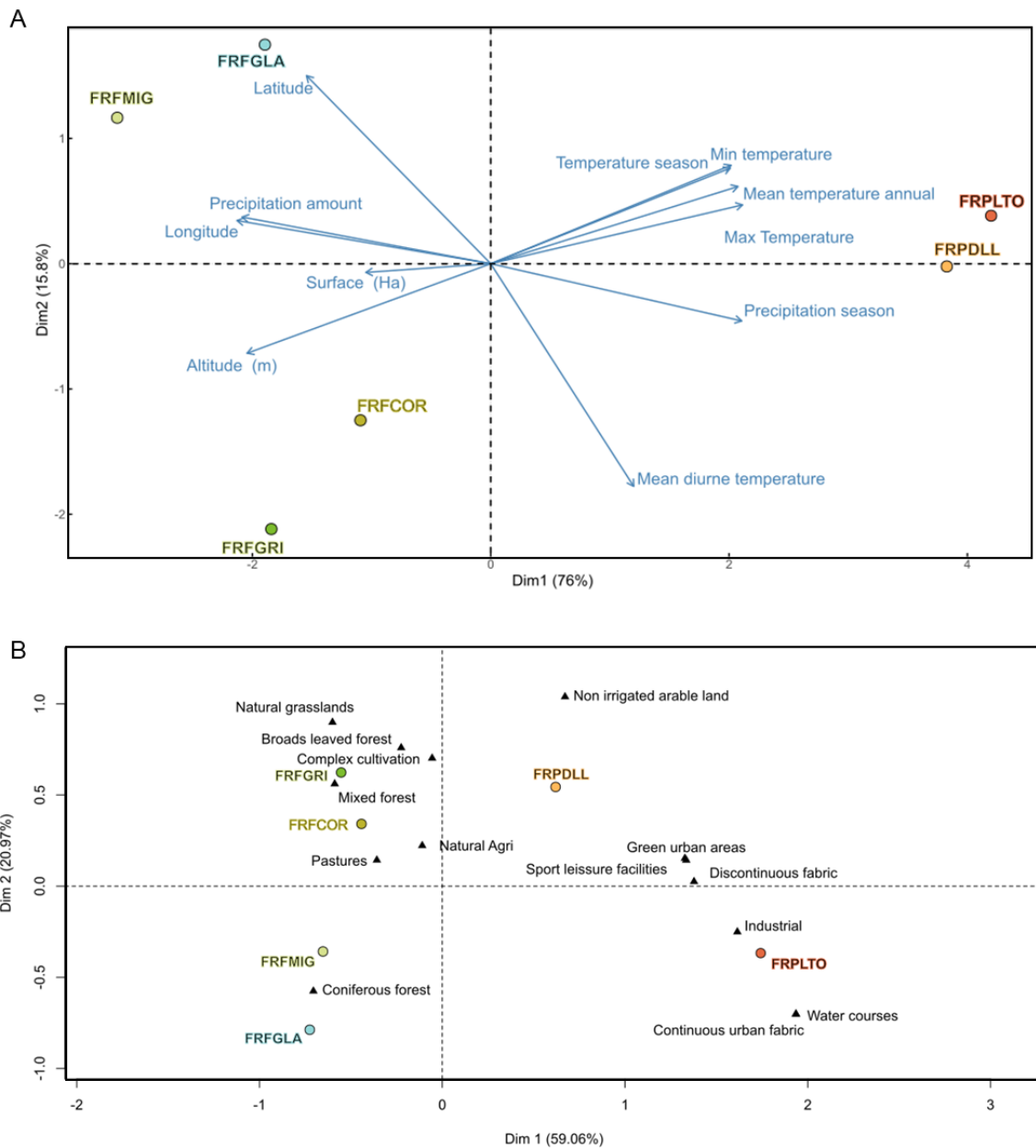


**Fig. 1.** A. Carte générale des zones étudiées et de leur position en France. Les localités sont indiquées par des cercles, cercles orange= parcs urbains (orange clair : péri-urbain et orange foncé = urbain); cercles verts = forêts aménagées ; cercles vert clair = forêts protégées (réserve biologique intégrale). B. Photographies des forêts au sein de chaque site mettant en évidence les différences de gestion. C. Disposition des lignes de 20 pièges INRAE et 1 piège nasse et/ou des pièges disposés de façon opportuniste à proximité des infrastructures des parcs. D. Photographies des infrastructures des parcs (bâtiments, égouts, poubelles, foin). FRPLTO : Lyon, Parc de la Tête d'Or (Rhône); FRPDLL : Marcy l'étoile, Domaine Lacroix Laval (Rhône) ; FRFCOR : Cormaranche en Bugey (Ain); FRFGRI : Arvière, La Griffes au diable (Ain) ; FRFMIG : Mignovillard (Jura) ; FRFGLA : Esserval-Tartre, La Glacière (d Jura).

## B. Quantification des différences bio-géoclimatiques

Afin d'analyser les différences environnementales inter-sites, nous avons réalisé une analyse en composantes principales (ACP) et une analyse canonique (AC) qui ont permis d'identifier l'ensemble des caractéristiques bioclimatiques, géographiques (latitude, longitude et altitude) et d'usage des sols discriminant chaque site. Pour cela nous avons extrait des indices bioclimatiques à partir de la base de données CHELSA (résolution de 1 km, <https://chelsa-climate.org/>, Karger et al., 2017) pour chaque site en utilisant les coordonnées du barycentre des pièges (Fig. 2A). De plus, nous avons utilisé la classification Corine Land Cover (*CORINE Land Cover, résolution de 100m*) et le logiciel *Qgis* (Karger et al., 2017) pour extraire la couverture terrestre (Fig. 2B). Après avoir supprimé les covariables par analyse de la corrélation de

Pearson, nous avons retenu les coordonnées du premier axe de la PCA, qui représente les différences inter-sites bio-géoclimatiques.



**Fig. 2. A.** Analyse en Composantes Principales (ACP) basée sur les caractéristiques bio-géoclimatiques. Les différents facteurs sont issus des coordonnées GPS et de la base de données Chelsa (définitions sur ce site <https://chelsa-climate.org/bioclim/>) ; **B.** Analyse canonique (AC) basée sur l'usage des sols à partir de Corine Land cover (définitions sur <https://land.copernicus.eu/user-corner/technical-library/corine-land-cover-nomenclature-guidelines/html> ). FRPLTO : Lyon, Parc de la Tête d'Or (Rhône) ; FRPDLL : Marcy l'étoile, Domaine Lacroix Laval (Rhône); FRFCOR : Cormaranche en Bugey (Ain) ; FRFGRI : Arvière, La Griffes au diable (Ain); FRFMIG : Mignovillard (Jura) ; FRFGLA : Esserval-Tartre, La Glacière (Jura).

Le premier axe de l'ACP basée sur les caractéristiques bio-géoclimatiques des sites expliquait 76% de la variance totale et mettait en évidence des différences associées principalement à la longitude, notamment en termes de précipitations et de températures (**Fig. 2A**). La région du Rhône présentait des températures plus élevées que le Jura et l'Ain. Cette différence bio-géoclimatique était également corrélée à des variations dans l'usage des sols. En effet, le premier axe de l'AC, expliquant 59% de la variance totale, opposait les parcs urbains avec une couverture du sol liée à l'urbanisation, aux forêts rurales avec la prédominance d'une couverture forestière (**Fig. 2B**). Notons que le parc urbain FRPDLL avait une couverture moins urbanisée que le parc FRPLTO.

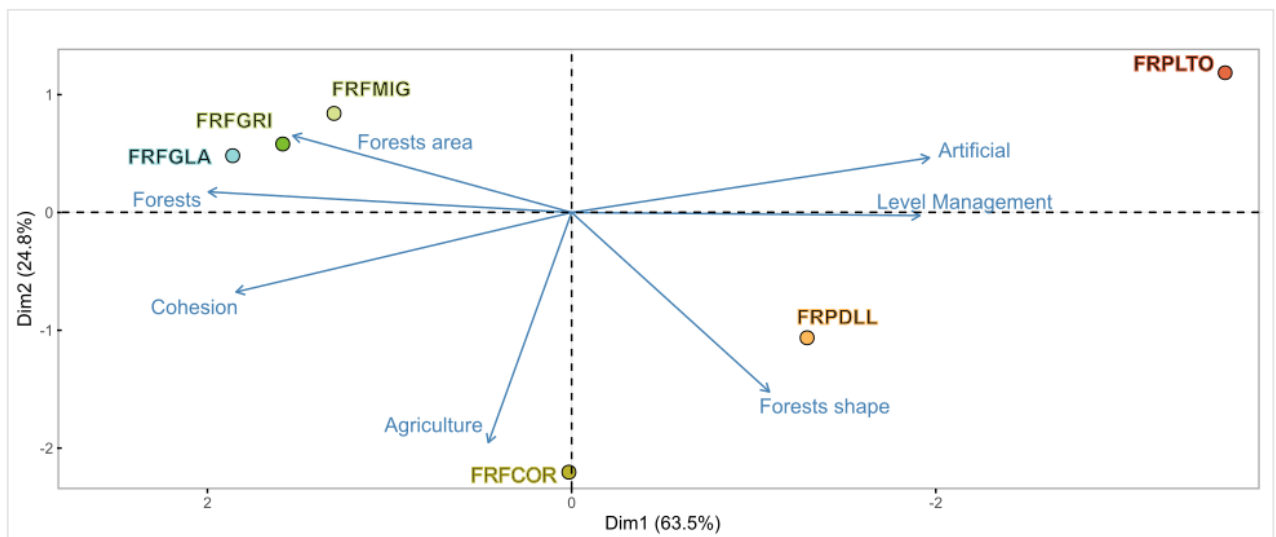
Le deuxième axe de l'ACP basée sur les différences bio-géoclimatiques expliquait 15% de la variance totale expliquée par l'ensemble des variables. Il révèle des variations de latitude et d'altitude entre les sites ruraux. L'Ain était caractérisé par une altitude plus élevée et une latitude plus basse, ce qui favorisait des températures diurnes plus élevées (**Fig. 2A**). De plus, le deuxième axe de la CA, expliquant 20% de la variance, mettait en évidence que l'Ain était plus caractérisé par des forêts mixtes, tandis que le Jura était caractérisé par une plus grande présence de forêts de conifères (**Fig. 2B**). En conclusion, bien que les différences bio-géoclimatiques et d'usage des sols diffèrent entre les régions d'échantillonnage et constituent de potentiels facteurs environnementaux pouvant affecter la composition des communautés d'hôtes et de pathogènes, la plus grande différence entre les sites reste liée au gradient d'anthropisation.

### C. Quantification du gradient d'anthropisation

Afin de quantifier le gradient d'anthropisation, nous avons réalisé une ACP en utilisant plusieurs facteurs. Ces facteurs comprenaient les pourcentages d'urbanisation et d'agriculture mesurés à l'aide de la classification *Corine Land Cover* (résolution de 100 mètres), ainsi que la fragmentation des forêts mesurée à l'aide de la classification *Corine Land Cover* (résolution plus précise de 10 mètres, package *Landscapemetric* Hesselbarth et al., 2019). Enfin nous avons ajouté le niveau d'exploitation des forêts différenciant notamment les réserves des autres types de forêts (aucune gestion = 0, gestion sanitaire (éviter la propagation de maladies) = 1, plantation artificielle (valeur économique) = 2, plantation exotique (valeur sociale ou invasive)



= 3, jardin (travail de bordure et élagage des arbres) = 4, infrastructure, aménagement du territoire = 5).



**Fig. 3.** Analyse en composantes principales (ACP) basée sur les facteurs relatifs à l'anthropisation. FRPLTO : Lyon, Parc de la Tête d'Or (Rhône) ; FRPDLL : Marcy l'étoile, Domaine Lacroix Laval (Rhône); FRFCOR : Cormaranche en Bugey (Ain) ; FRFGRI : Arvière, La Griffé au diable (Ain); FRFMIG : Mignovillard (Jura) ; FRFGLA : Esserval-Tartre, La Glacière (Jura).

Le premier axe de l'ACP basée sur les caractéristiques anthropiques des sites expliquait 63% de la variance totale et opposait les zones artificielles et gérées avec des forêts de petites tailles et discontinues à un environnement avec de plus grandes superficies continues et connectées de forêts (**Fig.3**). Les sites d'échantillonnage étaient organisés le long de cet axe, décrivant ainsi un gradient d'urbanisation avec des sites urbains (FRPLTO et dans une moindre mesure FRPDLL) et des sites ruraux (FRFCOR et FRFMIG). Ainsi, la combinaison de ces facteurs nous a permis de générer un score qui représente le gradient d'anthropisation à partir du premier axe de l'ACP, nous permettant ainsi de quantifier ce dernier. Le deuxième axe expliquait 29,83% de la variation totale (**Fig.3**). Il mettait en évidence un autre type de pression d'anthropisation correspondant à la gestion des terres. Les zones couvertes par un environnement agricole et des forêts fragmentées (FRFCOR) étaient opposées à des zones plus densément boisées (FRFMIG).

Nous avons comparé ce score d'anthropisation avec un indice moyen d'empreinte humaine fourni par WCS (*Wildlife Conservation Society*, <https://wcshumanfootprint.org/>, **Fig. 4A**) et un indice moyen de la richesse des espèces de petits mammifères sur un ensemble de 10 espèces

(Fig. 4B , Wint et al., 2013). Ces indices globaux combinent différents facteurs estimés à l'aide de modèles. Ce sont donc des prédictions qu'il faut interpréter avec une certaine prudence.

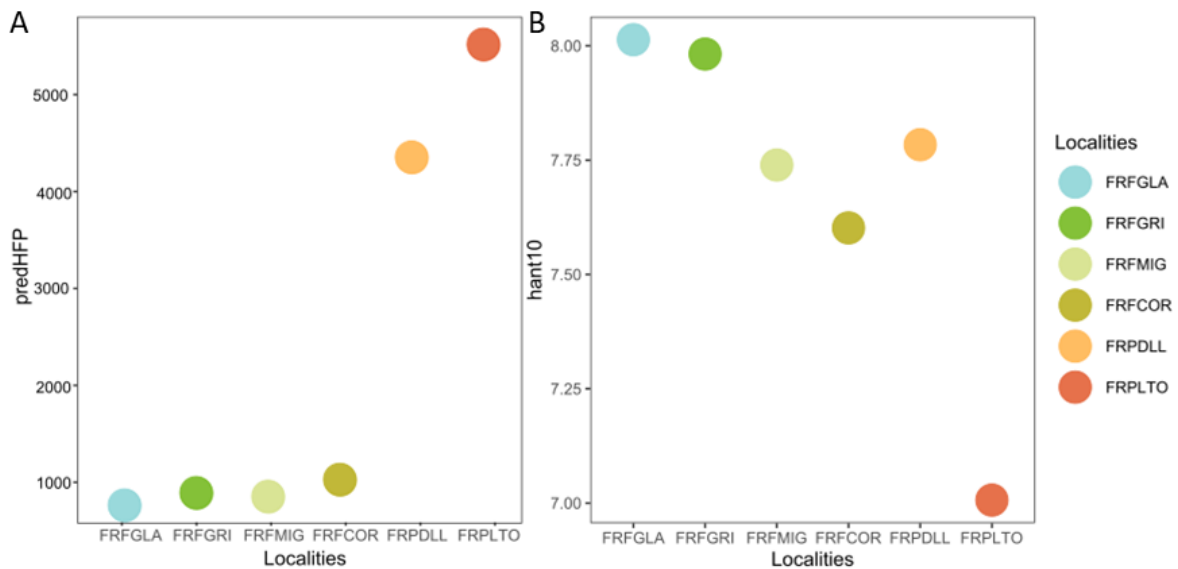


Fig. 4A. Prédiction de l'indice de l'empreinte humaine selon les différents sites noté PredHFP. B. Prédiction de la richesse de petits mammifères forestiers basée sur 10 espèces connues selon les différents sites noté hant10 (Wint et al., 2013). Les couleurs correspondent aux différents sites d'échantillonnage.

Sur la base de ces indices, nous avons constaté des différences anthropiques similaires entre les sites ruraux et urbains (Fig. 4A). Cependant, les différences observées entre les sites forestiers ruraux ne correspondent pas nécessairement aux résultats obtenus par le score précédemment décrit. Par exemple, les différences de niveau d'anthropisation entre les réserves et les sites gérés ne sont pas marquées ici. En ce qui concerne la richesse approximative globale (Fig.4B), les réserves semblent abriter davantage de petits mammifères que les forêts gérées et les parcs urbains, bien que la différence soit minime (1 espèce). Le parc de Lacroix Laval pourrait présenter des espèces à la fois forestières rurales et urbaines.

**Conclusion :** Au cours de notre étude, nous avons identifié plusieurs facteurs environnementaux bio-géoclimatiques et anthropiques susceptibles d'influencer la composition des communautés d'hôtes et de pathogènes présentes dans les sites étudiés. Comme attendu, les sites forestiers ruraux étaient moins impactés par l'anthropisation que les sites forestiers urbains. En revanche la différence entre réserves biologiques et forêts gérées était minime, et la différence entre les deux parcs urbains étudiés (au cœur de la ville ou en périphérie) était plus importante qu'attendu. C'est pourquoi nous considérons désormais deux types de parcs : le parc urbain et le parc péri-urbain. Pour les études ultérieures, afin d'avoir de meilleurs répliques, il serait bénéfique de mener des études dans plusieurs parcs urbains et péri-urbains. De plus, il serait opportun d'échantillonner à une échelle géographique plus fine les forêts et parcs afin de limiter les différences abiotiques non désirées. En optant pour un meilleur choix de sites d'échantillonnage, nous pourrions renforcer notre compréhension des interactions complexes entre l'environnement, les hôtes et les pathogènes.

### III. Caractérisation des communautés de petits mammifères terrestres

#### A. Echantillonnage des hôtes et prélèvements des organes

##### 1. Stratégie d'échantillonnage

Un échantillonnage bi-annuel (printemps, automne) a été mené entre 2020 et 2022 pour décrire les communautés de petits mammifères terrestres et leurs pathogènes dans les six sites d'étude (Fig. 5).

		Gradient d'anthropisation (sites d'échantillonnage)					
		FRFGLA	FRFGRI	FRFMIG	FRFCOR	FRPDLL	FRPLTO
Périodes	Printemps 2020	×	×			×	
	Automne 2020	×	×				
	Printemps 2021						
	Automne 2021						
	Printemps 2022	×	×				
	Automne 2022						

**Fig. 5.** Campagnes d'échantillonnages réalisées selon les différentes périodes allant du printemps 2020 au printemps 2022. Les autorisations d'échantillonner autour des réserves biologiques FRFGRI et FRFGLA n'ont été accordées que pour l'année 2021. Les restrictions de confinement, n'ont pas permis d'échantillonner la première saison à FRPDLL.

Les pièges de type INRAE sont disposés selon des lignes (10 lignes de 20 pièges), qui sont réparties de façon la plus homogène possible dans les forêts étudiées. Pour contrôler la présence d'espèces de taille plus importante, un piège à nasse a été ajouté en début de ligne (**Fig. 1C**). La faible superficie des parcs étudiés implique que les communautés de petits mammifères inféodés aux milieux boisés sont en contact avec les communautés de petits mammifères commensaux (vivant uniquement dans les milieux anthropiques). Il y a donc une possibilité de transmission d'agents pathogènes entre ces communautés, ce qui peut potentiellement participer à l'augmentation du risque zoonotique pour la population humaine. C'est pourquoi le piégeage des rongeurs commensaux (souris et rats) a été entrepris dans les parcs urbains. Étant donné la difficulté de capture de ces espèces, les pièges ont été installés de façon opportuniste dans les zones de présence avérée ou favorable comme des zones de déchets, d'entrepôts (foin, nourriture, présence d'animaux domestiques), des restaurants, des canaux d'irrigation (**Fig 1D**).

## *2. Méthodes de capture et mesures du taux de succès de piégeage*

Les lignes sont laissées en place au moins trois nuits. La fermeture du piège ainsi que la présence avérée ou non d'un individu sont contrôlés tous les matins et permettent de mesurer le taux de succès de piégeage de chaque espèce de petits mammifères pour chaque site et saison, à partir des données obtenues sur les trois premières nuits. Notons que seule une approximation de l'abondance relative et non une estimation de l'abondance absolue est possible et sera comparée entre sites. Les individus des espèces dont le nombre de capture excédait 35 par site au cours des deux premières nuits étaient relâchés et marqués. Si nous avions une recapture au cours des trois premières nuits, nous considérons le piège comme fermé-vidé. De plus, les espèces insectivores protégées étaient relâchées. Si possible les crottes étaient récupérées (ou la patte en cas de mort dans le piège) pour vérifier la taxonomie de l'animal. Le succès du piégeage a été calculé selon la méthode de Aplin et al. (2003) comme suit :

*Succès de piégeage =*

*$\ln(1 - \text{nombre de rongeurs capturés} / (\text{nombre de pièges} \times \text{nombre de nuits})) \times (-100)$ .*

Bien que cette méthode ne soit pas la meilleure pour évaluer l'abondance des espèces, notamment par rapport à la méthode de capture marquage recapture (CMR), elle est la plus fréquemment utilisée dans le cas de piégeages invasifs. Nous n'avons pas pu utiliser des modèles classiques de suppression, i.e. CMR, qui permettent de prendre en compte l'élimination des individus, du fait du non-respect de l'hypothèse garantissant une probabilité de capture équitable dans le temps de l'étude (Rodriguez de Rivera & McCrea, 2021). La méthode CMR a également ses limites. Elle ne permet pas de supprimer les biais liés à la difficulté de capture des petits mammifères dans les habitats difficiles d'accès (Parsons et al., 2015), liés à leur comportement social développé et de leur capacité d'adaptation et d'évitement des zones de danger. Des techniques telles que l'utilisation de pièges vidéo, de collier GPS balises, de radiotélémetrie ou d'identification par radiofréquence (RFID) pourraient compléter nos dispositifs de piégeage pour mieux évaluer l'abondance des espèces (Byers et al., 2017). Elles pourraient aussi être bénéfiques pour évaluer les interactions inter-espèces ou les trajets parcourus par les individus, apportant de nouvelles informations sur la transmission potentielle des pathogènes intra- et inter-espèces hôtes (Sih et al., 2018). Enfin les techniques de métabarcoding appliquées à l'étude de l'ADN environnemental pourraient offrir la possibilité de détecter un plus vaste ensemble d'espèces utilisant les sites étudiés, de manière non invasive. Cela permettrait notamment d'identifier plus efficacement la présence d'espèces difficiles à capturer (Mena et al., 2021). Ainsi la meilleure approche pour détecter la biodiversité serait d'adopter une combinaison judicieuse de différentes méthodes.

Grâce à l'application de nos méthodes de capture, nous avons pu effectuer un recensement de **1734 petits mammifères** à l'aide de **12 245 pièges** répartis sur une période de 3 nuits. Le taux global de réussite de piégeage s'est élevé à environ **14%**. Nous avons disséqué et collecté les données et prélèvements individuels pour un total de **1593 petits mammifères**. Ces données exhaustives et détaillées constituent une base fondamentale pour notre analyse approfondie de la biodiversité des petits mammifères mais aussi des échantillons précieux pour la détection des pathogènes.

### *3. Dissection et prélèvement des organes*

Pour préserver l'intégrité des microorganismes et de leur ADN/ARN, les petits mammifères capturés vivants ont été immédiatement disséqués après avoir été euthanasiés à l'aide d'isofluorane et d'une dislocation cervicale (Mills et al. 1995). La manipulation des individus et

leur dissection pouvant entraîner des risques de transmission de pathogènes, l'ensemble de ces procédures s'est fait dans des conditions de haute protection telles que recommandées dans les laboratoires de risque 2 (double paire de gants, masque FFP2, lunettes et blouse jetables ; Photo Fig. 6). Les mesures morphologiques ont été prises pour chaque individu, incluant le poids, la taille de la queue, des pattes et du corps et le développement des caractères sexuels. De plus, la présence d'ectoparasites (tiques, puces, acariens) et de macroparasites (*taenia*, *Ecchinococcus* sp.) ou d'autres signes cliniques marquants (plaque de peyer, occlusion intestinale, nécrose du foie ...) ont été notés. Les organes ont été prélevés puis stockés dans des tubes référencés par datamatrix. Pour l'étude des pathogènes, nous prélevons la rate (bactéries), le rein (leptospires), les poumons (Orthohantavirus) et le cœur (détection de virus par sérologie). Les oreilles sont prélevées pour la détection de *Borellia*. Le prélèvement du tube digestif permet l'étude du microbiote intestinal et des helminthes intestinaux.



Fig. 6. Photographies illustrant les différentes étapes de la capture et de la dissection des petits mammifères. **Etape 1.** Préparation du terrain : Ajout d'appâts, de coton hydrophobe protégeant les individus de l'eau de pluie, et fruits garantissant l'apport hydrique de l'individu dans les pièges. Annotation des pièges selon le nom de la ligne et du numéro de pièges (allant de 1 à 20). **Etape 2.** Pose des pièges INRAE le long des linéaires (tronc d'arbres, souches, branches) où les individus peuvent se cacher et donc dont les chances de captures sont plus propices. La pose des nasses est plus opportuniste à côté des poubelles et zones de restauration. Mesure du taux de succès de piégeage quotidien. Les informations de captures ont été collectées sur tablette (GPS, capture identification morphologique, date, heure, numéros de pièges, lignes...). Les captures étaient soit relâchées avec marquages (insectivores et nombre est supérieur à 35 individus par espèces, sites et périodes), soit conservées pour dissections. **Etape 3.** Les individus sont euthanasiés à l'aide de l'isofluorane et dislocation cervicale. Les informations morphologiques (taille, poids, caractères sexuels) et la présence d'ectoparasites ont été enregistrées sur une feuille de papier. **Etape 4.** Les prélèvements de chaque organe ont été effectués. Ces derniers ont été stockés dans un tube prévu à cet effet avec identifiants uniques et datamatrices. **Etape 5.** Les équipements de protection individuelle contre la contamination de pathogènes étaient utilisés durant toute la manipulation et dissection et étaient à usage unique. Plus précisément, deux paires de gants étaient utilisées permettant de changer une paire entre chaque animal tout en gardant une protection constante à l'aide de la deuxième paire ; les masques (FFP2), blouses et lunettes évitaient les projectiles. Une étape de nettoyage des instruments de dissection et de la planche à l'aide du désinfectant virkon était effectuée entre chaque animal afin d'éviter toute contamination inter-échantillons. Tous les matériaux utilisés à usages uniques et déchets biologiques sont jetés dans une poubelle DASRI. Les pièges sont nettoyés et désinfectés après toutes les captures. Chaque tube est conservé dans une boîte clairement identifiée (identifiant unique et datamatrix) et chaque couleur correspond à un organe. Le cœur est prélevé et stocké dans du PBS à -20°C. Les poumons, le rectum et un morceau de foie sont prélevés et conservés dans une solution de bouclier d'ARN (un jour à 4° puis -20°C). La rate, le tube digestif, les oreilles, la patte arrière gauche et un morceau de queue sont prélevés et conservés dans de l'éthanol à 96 %. Les fèces et un morceau de poumon sont collectés et conservés à -20°C. Les métadonnées associées aux échantillons et à l'ensemble d'occurrences ont été déposées dans la base de données sur les petits mammifères du CBGP (BPM, <https://doi.org/10.15454/WWNUPO>).



## B. Identification morphologique et moléculaire des espèces de petits mammifères

Les espèces de petits mammifères peuvent pour la plupart être discriminées les unes des autres par leurs critères morphologiques (**Fig. 7**). Notons qu'au printemps 2020 tous les individus ont été séquencés afin d'établir un inventaire fin de la biodiversité. Pour les autres années, une identification taxonomique par séquençage Sanger COI est réalisée pour tous les individus dont les critères morphologiques décrits ci-dessus n'étaient pas suffisants pour une identification spécifique non ambiguë. Ceci inclut tous les individus du genre *Microtus* et les insectivores. Pour cela l'ADN a été extrait des reins ou de la patte à l'aide du kit BioBasics® en suivant les recommandations du fabricant. Puis une amplification par PCR du gène COI (650pb, amorces BAtL5310 et R6036R) est réalisée selon le protocole décrit dans Pagès et al. (2010). Les séquences obtenues ont été analysées en comparant les séquences nettoyées sur le logiciel SeaView (Gouy et al., 2010) aux séquences de référence publiées sur *Bold Systems V4*.

Afin de différencier les deux espèces d'*Apodemus* (mulots), *Apodemus sylvaticus* et *Apodemus flavicollis*, souvent présentes dans les mêmes habitats et capturées en grand nombre, mais non reconnaissables morphologiquement, un protocole plus rapide et moins onéreux a été appliqué. L'ADN a été extrait du rein à l'aide du kit BioBasics® avec les recommandations du fabricant. L'identification spécifique a été déterminée à l'aide de l'empreinte ADN (AP-PCR) obtenue avec l'amorce E8S, selon Bugarski-Stanojević et al. (2013).

Au total, nous avons réussi à capturer et à identifier 11 espèces appartenant à l'ordre des Rongeurs (*Rodentia*) et à quatre familles : *Gliridae* (*Glis glis*), *Sciuridae* (*Sciurus vulgaris*), *Muridae* (*Rattus norvegicus*, *Mus musculus*, *Apodemus sylvaticus* et *Apodemus flavicollis*) et *Cricetidae* (*Clethrionomys (Myodes) glareolus*, *Microtus arvalis*, *Microtus subterraneus* et *Microtus agrestis*). Sept espèces d'insectivores ont été capturées dont la plupart appartenait à la famille des *Soricidae* de l'ordre des *Soricomorpha* (*Sorex araneus*, *Sorex coronatus*, *Sorex minutus*, *Neomys fodiens*, *Crocidura russula* et *Crocidura leucodon*) et une espèce appartenait à l'ordre des Erinaceomorphes (*Erinaceus europaeus*) (**Fig. 7 et 8**).

La phylogénie de ces espèces a été établie en utilisant *TimeTree of Life 5* (Kumar et al., 2017). Cette approche permet de déterminer les distances phylogénétiques entre les différents groupes taxonomiques, ce qui s'avère essentiel pour les études ultérieures (voir **chapitre 3**).

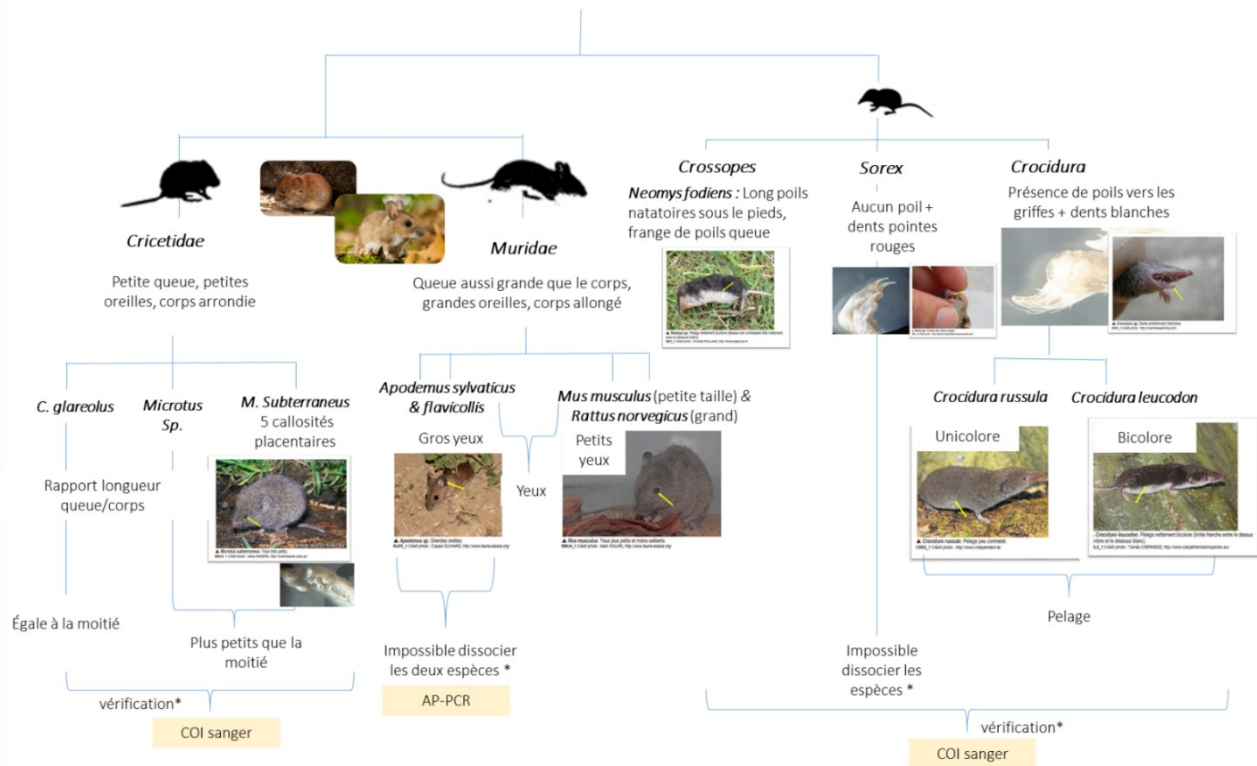


Fig. 7. Méthodes d'identification morphologique avec les critères associés pour chaque famille, genre ou espèce. Les noms des familles, genres et espèces sont indiqués en gras et en italique. Les logos correspondent à la silhouette des individus et les photographies sont extraites des clés d'identification générées par GEPMA.

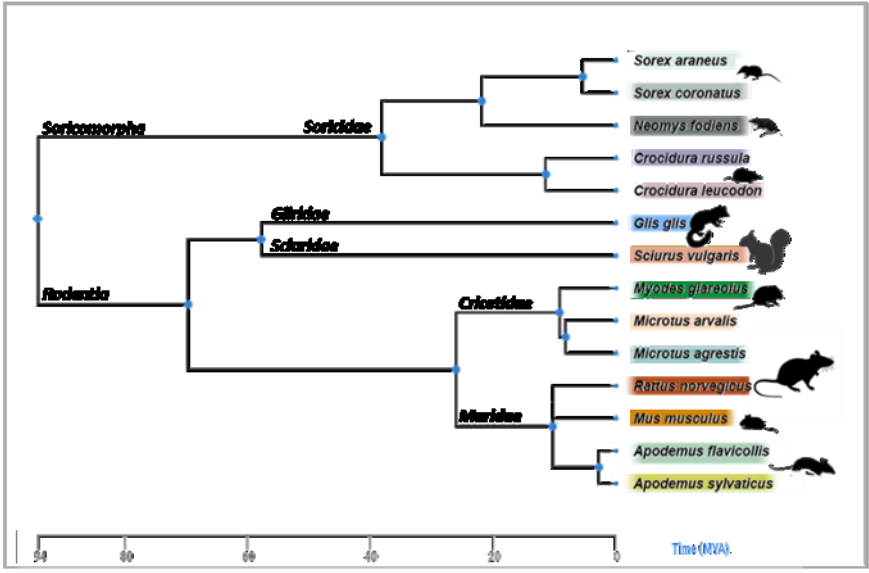


Fig 8. Arbre phylogénétique des espèces de petits mammifères les plus capturés dans cette thèse. Les rangs taxonomiques (ordre, famille, genre et espèce) ont été annotés sur l'arbre. Les nœuds correspondent à des ancêtres communs hypothétiques. Les silhouettes illustrent les genres ou les familles. Chaque couleur associée à l'espèce est relative au type d'espèce (dans les tons de vert pour les espèces forestières rurales, dans les tons de rouge pour les espèces urbaines et dans les tons de gris-violet pour les insectivores) et sera utilisée tout au long de la thèse. L'arbre a été obtenu avec TimeTree of Life 5 (Kumar et al., 2022).

### C. Variations spatio-temporelles des communautés de petits mammifères

En comparant les espèces capturées avec la diversité attendue dans la région de l'Est de la France (à l'exception des Alpes) et l'habitat forestier, nous avons retrouvé la plupart des espèces attendues décrites dans le guide naturaliste ("Les Rongeurs de France" de J.P. Quéré et H. le Louarn (2011)), à l'exception de quelques espèces rares comme certains campagnols ou des espèces protégées telles que le lérot ou le muscardin. Les espèces qui n'ont pas été capturées sont celles pour lesquelles les pièges au sol, leur taille et les appâts utilisés n'étaient pas adaptés à leur capture (Fig. 9).

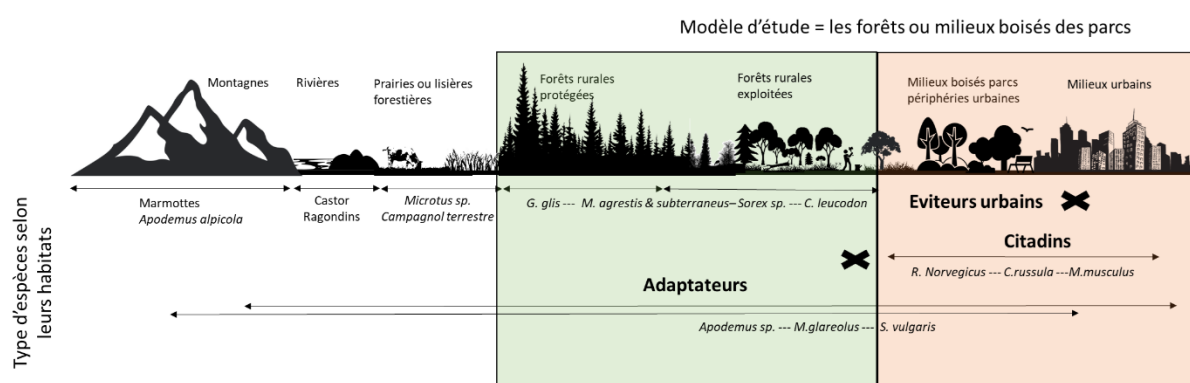


Fig. 9. Type d'habitats utilisé par les espèces de petits mammifères, tel que décrit dans "Les Rongeurs de France" de J.P. Quéré et H. le Louarn (2011). Les logos indiquent les différents habitats, la partie verte indique les zones forestières rurales et la partie rouge les milieux boisés des parcs urbains. Les flèches montrent des exemples d'aire de répartition selon les habitats et indiquent les différents types d'espèces.

Certaines espèces étaient strictement forestières. C'est le cas de *Glis glis*, *M. agrestis* et *M. subterraneus* et de nombreuses espèces d'insectivores à l'exception de *Crocidura russula*. On les considère comme des 'éviteurs urbains', *i.e.* des espèces évitant les milieux urbains. A l'inverse certaines espèces sont strictement urbaines comme *Rattus norvegicus*, *Mus musculus* et *C. russula*. On les dit 'citadins'. Enfin nous avons retrouvé des espèces ubiquistes, telles que *Apodemus sp.* et *Clethionomys* (syn. *Myodes*) *glareolus*. On les appelle les 'adaptateurs urbains' (Fig. 9, Fischer et al., 2015).

L'abondance des espèces variait en fonction des saisons et des années (Fig. 10). Les cycles saisonniers sont influencés par les périodes de reproduction, les fluctuations des ressources alimentaires ou les facteurs climatiques (Andreassen et al., 2020). Par ailleurs, les cycles pluriannuels sont également connus chez nombre de ces espèces, avec des pics d'abondance détectés tous les 3 à 5 ans (Andreassen et al., 2020). Ces variations peuvent s'expliquer en

grande partie par les phénomènes de fructification en masse des arbres, la dynamique proies/prédateurs, et les niveaux d'abondance et de qualité des ressources alimentaires disponibles (Bogdziewicz et al., 2016).

Dans notre étude, nous avons remarqué une nette augmentation du taux de succès de piégeage moyen en 2021, avec des pics légèrement décalés selon le type de forêt. Les pics les plus importants pour les trois espèces adaptatrices (*A. flavicollis*, *A. sylvaticus* et *C. glareolus*) ont été observés à l'automne 2021, tandis que les pics dans les deux parcs (et potentiellement dans les réserves) ont eu lieu au printemps 2021. Les espèces citadines *R. norvegicus*, *C. russula* et *M. musculus*, ainsi que *A. flavicollis* dans les parcs péri-urbains, montraient moins de variation d'abondance relative au cours du temps, probablement en raison d'une abondance constante de nourriture dans ces environnements, d'une reproduction continue ou de variations de températures moins fortes (Torre et al., 2022).

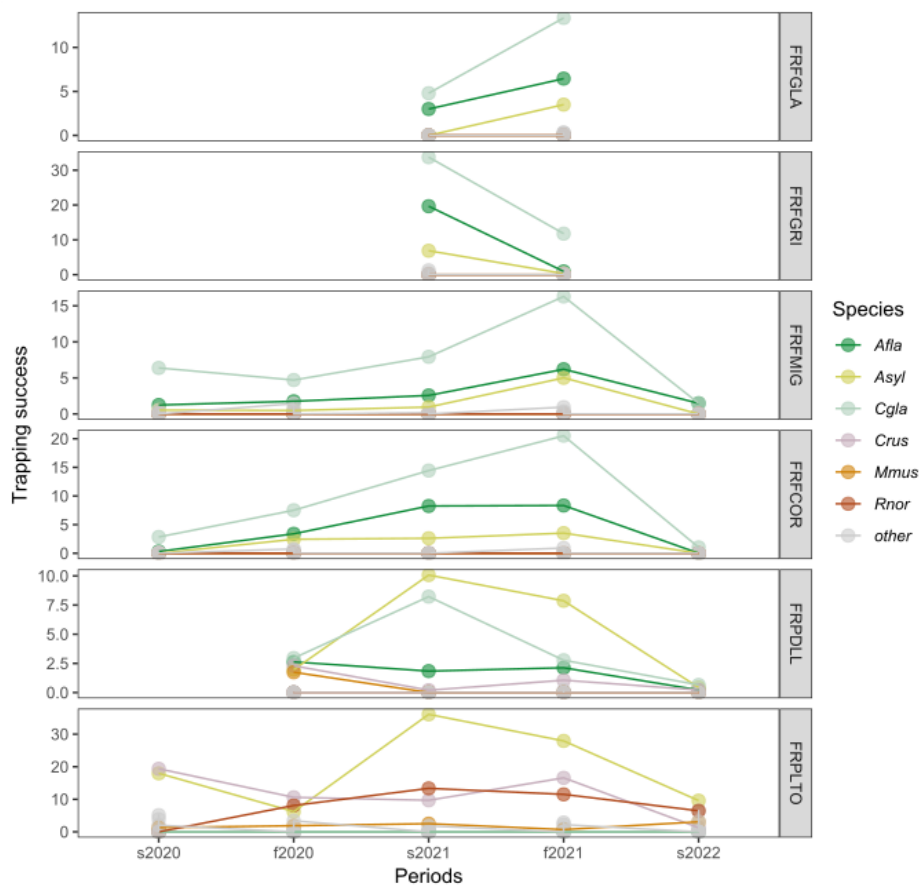


Fig. 10. Moyenne du taux de succès de piégeage observée pour les espèces les plus abondantes, dans les six sites d'étude et au cours du temps. Les espèces sont représentées par des couleurs (Asyl = *Apodemus sylvaticus* ; Afla= *Apodemus flavicollis*, Cgla= *Clethrionomys* (syn. *Myodes*) *glareolus*, Crus = *Crocidura russula*, Mmus= *Mus musculus*, Rnor = *R. norvegicus*). Les périodes sont classées par saison (s= spring (printemps) et f= fall (automne)).

#### D. Ecologie des espèces de petits mammifères

Nous avons utilisé une ACP pour identifier les traits écologiques qui expliquent à la fois la taxonomie des espèces et leur distribution le long du gradient d'anthropisation (Fig.11). Pour chaque espèce, nous avons extrait les traits écologiques à partir de la base de données PanTHERIA et le cycle d'activité et le régime alimentaire à partir de la base de données Elton (Jones et al., 2009, Wilman et al., 2014). Afin de compléter les données manquantes, nous avons utilisé les métadonnées de B. Han (2015), qui avaient été lissées sur toutes les espèces de rongeurs avec les données de PanTHERIA. Pour les insectivores nous avons utilisé le package *missMDA*. Les livres "Insectivores et Rongeurs du Sud de la France" de F. Poitevin et J.P. Quéré (2021), ainsi que "Les Rongeurs de France" de J.P. Quéré et H. le Louarn (2011), ont été utilisés comme sources pour décrire les habitats et sur les traits écologiques des espèces.

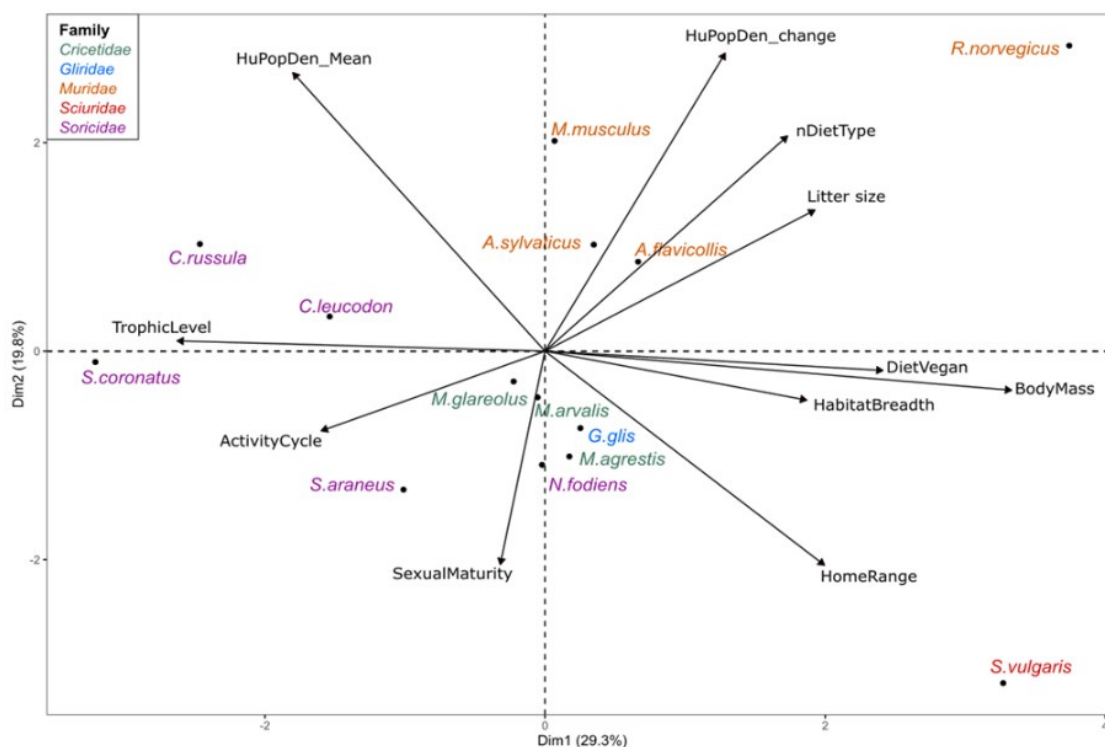


Fig. 11. Analyse en composantes principales basée sur les traits écologiques des petits mammifères (flèches noires). Les espèces sont représentées par des points et des couleurs qui correspondent à la famille taxonomique de chaque espèce. Le nom des traits est issu des bases de données Pantheria ou Elton.

Le premier axe de l'ACP basé sur la taxonomie et les traits écologiques des espèces de petits mammifères reflète la taxonomie des espèces (ACP1 : Test F,  $R^2=67\%$ ,  $P=0.02$ , Fig. 11). Il explique 29,3 % de la variance totale, avec les *Soricidae* d'un côté et les *Rodentia* de l'autre (test T,  $P=0,006$ ). Il sépare les espèces en fonction de leur niveau trophique. Outre ces différences, l'ordre des *Soricomorpha* se distingue des rongeurs par un cycle de vie plus court en raison de

leur petite taille, de leur masse corporelle réduite et une activité cyclique plus rapide. Les rongeurs ont une taille plus imposante que les soricomorphes mais restent relativement petits comparés aux autres mammifères, leur permettant de bénéficier de traits caractéristiques d'espèce de stratégie écologique de type « R ». Ils ont des domaines vitaux plus étendus et un régime alimentaire plus vaste et diversifié. De plus, ils ont des capacités de reproduction conséquentes grâce à des portées de grande taille (Quéré & Louarn, 2011).

L'écureuil roux, *Sciurus vulgaris*, est le plus grand rongeur forestier en France. Il adopte une stratégie de type « K », caractérisée par une taille importante, une faible fécondité, une durée de vie pouvant atteindre jusqu'à 7 ans et occupe de grands domaines vitaux (Jones et al., 2009; Quéré & Louarn, 2011).

Cependant, la population d'écureuils roux a été gravement impactée dans les forêts en raison d'accidents routiers et de la fragmentation de son habitat forestier (Poitevin & Quéré, 2021). Par conséquent, sa densité est devenue très faible (0.5 individu/hectare). Le parc de la Tête d'Or (FRPLTO) abrite une population importante d'écureuils roux, et constitue une réserve pour cette espèce (Fig. 12).



**Fig. 12.** Ecureuil roux, *Sciurus vulgaris*, au parc de la Tête d'OR (FRPLTO). Protégé depuis les années 1981, il est très abondant dans ce parc. © N. Charbonnel

Le deuxième axe de l'ACP explique 19,8 % de la variance totale (Fig. 11), et met en évidence des différences au niveau des familles au sein des ordres, pouvant refléter les caractéristiques



liées à l'adaptation dans les milieux anthropiques. Les muridés (en particulier *M. musculus* et *R. norvegicus*) étaient opposés aux autres familles (test T,  $P= 0,002$ ), en raison de leur capacité à résister à une forte densité de population humaine. Les muridés par leur régime alimentaire diversifié (omnivorie), la taille importante de leur portée et l'âge de leur maturité sexuelle relativement plus courte sont d'excellents colonisateurs.



**Fig 13.** A. *Rattus norvegicus* sortant d'un égout. B. *Apodemus sylvaticus*, corps allongé, queue aussi grande que le corps, grands yeux, grandes oreilles décollées, doté de pattes arrières développées qui lui permettent de faire des bonds. C. *Mus musculus* occasionnant des dégâts en mangeant des graines. © getty image / shutterstock

*Rattus norvegicus* obtient un score élevé sur les deux axes de l'ACP. En tant qu'une des espèces les plus grandes en taille, il bénéficie des caractéristiques de la stratégie K, telles qu'un large domaine vital et une survie relativement longue (1 à 3 ans) (Poitevin & Quéré, 2021). Il est capable de parcourir de grandes distances (**Fig. 13A**). Cependant, il possède également des caractéristiques adaptatives de type "R", avec une reproduction extrêmement prolifique toute l'année, produisant de 5 à 6 portées par an, avec 7 à 8 jeunes par portée (Quéré & Louarn, 2011). En plus de ces traits physiques particuliers, *Rattus norvegicus* a également développé un comportement social très hiérarchique au sein des colonies permettant un partage des activités et une meilleure protection de la colonie. Ces caractéristiques sont concordantes avec les résultats d'une méta-analyse mettant en évidence les traits des mammifères urbains (Santini et al., 2019).

Cet axe met également en évidence une différence entre les familles d'insectivores, notamment entre les *Crocidae* et les autres espèces d'insectivores. Outre la différence de taille et les traits associés, les *Crocidae* présentent des capacités sociales plus développées que les autres familles, ce qui leur permet de protéger leurs petits en les éloignant du nid et de partager les nids avec plusieurs portées (Poitevin & Quéré, 2021). Il est important de noter que *C. russula* était l'espèce ayant obtenu le score le plus élevé sur cet axe. *C. russula* a une large



répartition, colonisant notamment les environnements anthropiques comme les jardins et remplaçant parfois *C. leucodon* en raison de sa compétitivité accrue.

En revanche, les espèces des genres *Sorex* et *Neomys* sont davantage associées aux milieux forestiers et sont territoriales, avec des comportements parfois agressifs. Leur densité est moins élevée et ces espèces peuvent être considérées comme vulnérables dans certaines zones (Poitevin & Quéré, 2021).



**Fig. 14.** *Crocicidura russula* avec un comportement social, la mère protégeant les petits en les amenant dans un autre nid. Comportement appelé « caravane » © Quentin Martinez

Bien que l'ACP n'ait pas mis en évidence des traits écologiques distincts entre et au sein des *Cricetidae* et des *Gliridae*, ces familles taxonomiques ont des caractéristiques particulières. Le loir gris (*Glis glis*) a un habitat forestier et un mode de vie arboricole. Il a aussi la capacité d'hiberner contrairement à toutes les autres espèces de rongeurs de l'étude. En hiver les loirs gris accumulent beaucoup de graisses et peuvent alors doubler de poids. Leur densité reste plutôt faible, estimée à environ 22 individus par hectare. De taille plus importante, ils ne comptent qu'une portée annuelle en moyenne (2 à 8 jeunes), et vivent jusqu'à 6 ans (Quéré & Louarn, 2011).

Les espèces appartenant à la famille des *Cricetidae* (**Fig. 15**) présentent des différences notables en termes d'habitat, de comportements, de régimes alimentaires et de taux de reproduction. Ces différences leur permettent de s'adapter à des environnements spécifiques et de jouer des rôles distincts au sein des écosystèmes. Les variations de leur densité sont étroitement liées

entre elles et dépendent en partie des mécanismes environnementaux qui influencent la disponibilité des ressources ou qui entraînent des dynamiques similaires entre les proies et les prédateurs.



Fig. 15. Cricetidae ; Corps arrondis, petits yeux, petites oreilles et collées. A. *Clethrionomys* (syn. *Myodes*) *glareolus* dans une forêt © Anne Mari Kalus/ WTML ; B. *Microtus arvalis* ou campagnol des champs dans une prairie

L'habitat du *Microtus arvalis* est principalement composé de prairies naturelles ou de champs cultivés. Sa densité peut atteindre jusqu'à 1000 individus par hectare lors de pullulation, ce qui en fait l'un des ravageurs majeurs des cultures agricoles en raison des dégâts causés par ses terriers et de sa consommation de grains de céréales (Quéré & Louarn, 2011). En revanche, *Microtus agrestis* est plus spécialisé pour les zones forestières telles que les coupes à blanc, les grandes herbes et les lisières des champs, se nourrissant de jeunes pousses, de graines ou d'écorces (Quéré & Louarn, 2011). *Microtus subterraneus* est une espèce souterraine qui se nourrit à la fois de parties aériennes et souterraines des plantes, ce qui lui permet d'endommager les cultures de racines. Cette espèce est moins sujette aux variations saisonnières, se reproduit tout au long de l'année (même en présence de neige) et présente une faible diversité génétique. *Clethrionomys* (syn. *Myodes*) *glareolus* présente une grande plasticité d'habitat, se retrouvant dans les forêts, les milieux herbacés et sous les bois morts. Ses phases cycliques correspondent à celles du *Microtus arvalis*, et il peut également atteindre des densités élevées (Quéré & Louarn, 2011).

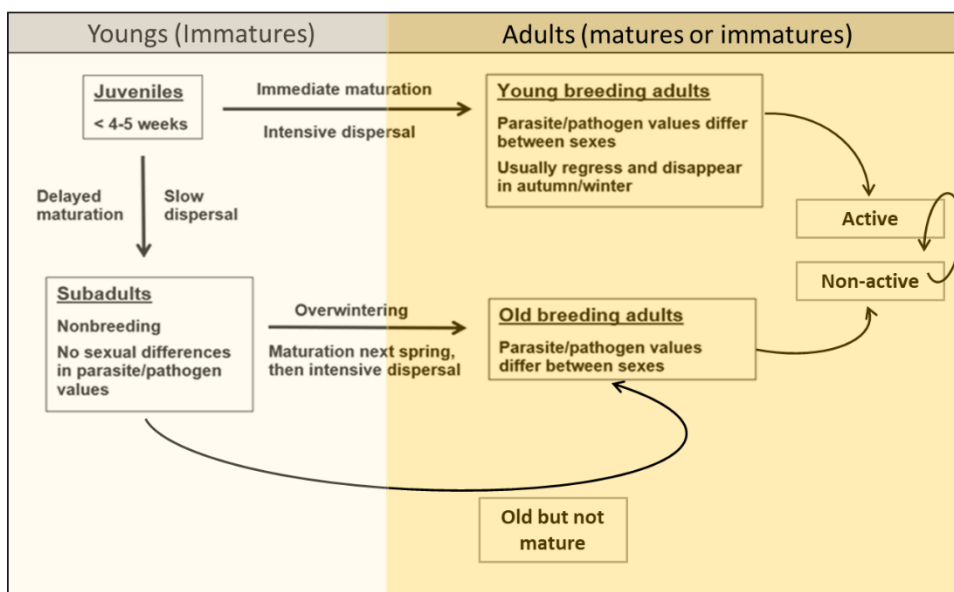
#### E. Définition de groupes fonctionnels et caractérisation de la condition corporelle des petits mammifères

##### 1. Groupes fonctionnels

L'âge peut être important dans l'étude des pathogènes, car des différences de sensibilité et de transmission peuvent exister notamment entre juvéniles et adultes. Les juvéniles peuvent

bénéficier d'anticorps maternels (ex. Borucki et al., 2000), ou au contraire ne pas avoir acquis les anticorps nécessaires les protégeant de réinfection par certains pathogènes. De plus, leur prévalence peut augmenter avec l'âge en raison d'un risque d'exposition accru ou suite à une accumulation de pathogènes, notamment dans le cas d'infections chroniques et persistantes (Luis et al., 2013). Or, la détermination de classes d'âge est complexe et l'approximation par le poids ne suffit pas à les différencier (Henttonen, 2022).

De plus, l'étude de l'âge seul ne suffit pas pour la compréhension de la circulation des pathogènes. La maturité sexuelle joue également un rôle important, notamment dans les changements de comportement (dispersion), de physiologie et d'immunologie, qui peuvent influencer l'exposition ou la sensibilité aux pathogènes (Henttonen, 2022). Nous pouvons avoir 4 classes fonctionnelles : les juvéniles non matures, les subadultes non matures, les jeunes adultes reproducteurs et les vieux adultes reproducteurs (Fig.16, Henttonen, 2022). L'étude du développement des caractères sexuels (position et taille des testicules /vésicules chez les mâles, ouverture du vagin et taille de l'utérus chez les femelles) est souvent le meilleur moyen de différencier les adultes reproducteurs des non reproducteurs, même si cette méthode a également ses limites. Enfin, il est important de noter que certains adultes peuvent avoir acquis leur maturité sexuelle mais ne seront pas actifs pendant une saison donnée, ce qui peut se traduire par une diminution de la taille des testicules (Baláž & Ambros, 2010).



**Fig. 16.** Figure inspirée de Henttonen, 2022, indiquant les deux classes fonctionnelles que nous avons utilisées pour nos données.

A partir de cela nous avons considéré deux groupes fonctionnels : les jeunes immatures et les adultes (matures ou immatures), en utilisant les caractéristiques sexuelles puis en corrigeant par le poids (jeunes individus immatures sexuellement – désignés jeunes immatures ci-après, versus individus adultes ayant atteint ou non la maturité sexuelle – désignés adultes ci-après). Les femelles en gestation ou en lactation, ainsi que les individus présentant au moins deux caractères sexuels développés, ont été considérés comme sexuellement matures, tandis que les individus ne présentant aucun ou seulement un caractère sexuel développé ont été considérés comme immatures. Afin de détecter les vieux mâles non actifs sexuellement, ou les mâles non matures mais adultes, ayant retardé leur reproduction à l'année suivante, nous avons pris en compte le poids des individus mâles et nous avons classé ces individus dans la catégorie 'adulte'.

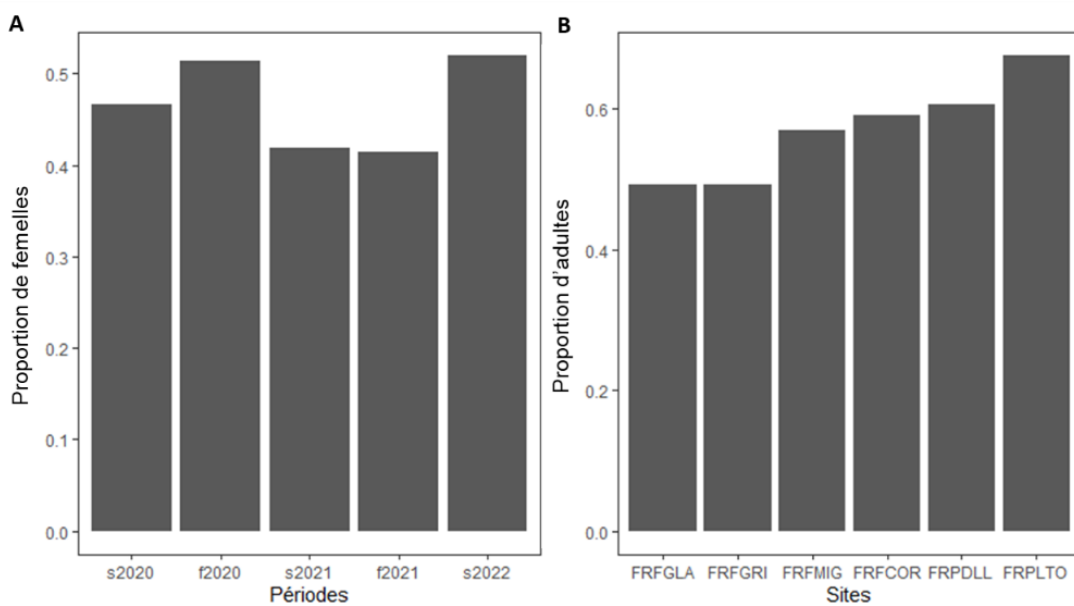


Fig. 17 A. Proportion de femelles selon les périodes. B. Proportion d'adultes le long du gradient d'anthropisation.

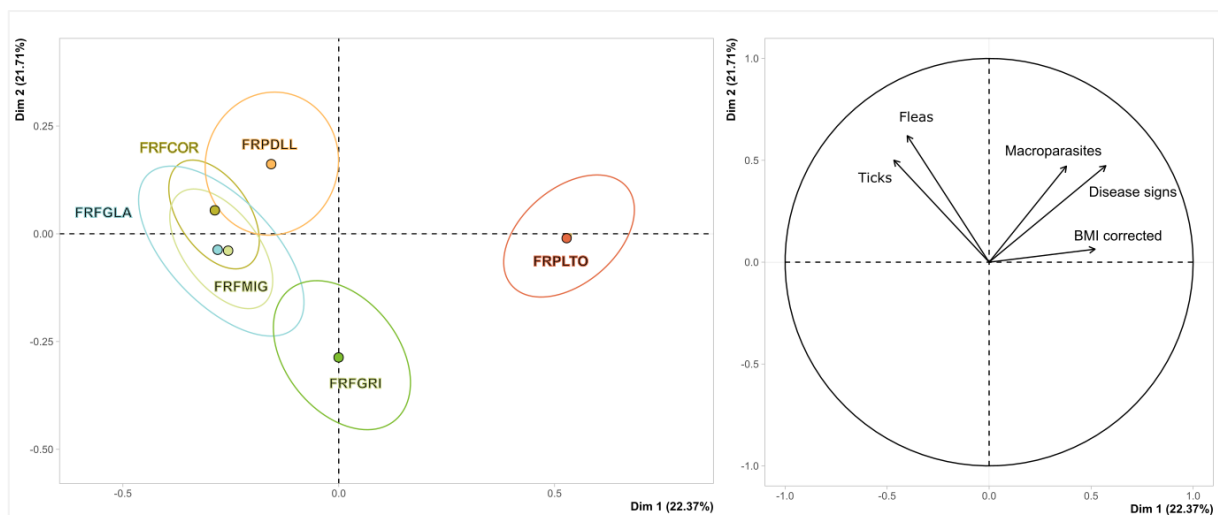
Nous avons utilisé un modèle linéaire généralisé (GLM) pour vérifier l'équilibre du sex ratio et du ratio adultes/jeunes immatures entre espèces, périodes et sites d'étude.

Le sex ratio ne présentait de variation significative qu'en fonction de la période, avec un biais vers les femelles dans les périodes de faible densité (Test de  $\chi^2 = 11.91$ ,  $P = 0.018$ , voir Fig. 17A). En revanche, le nombre moyen d'adultes différait en fonction de l'espèce (Test de  $\chi^2 = 25.22$ ,  $P = 0.0006$ ), du site (Test de  $\chi^2 = 13.59$ ,  $P = 0.018$ ), et de la période (Test de  $\chi^2 = 12.07$ ,

$P= 0.016$ ), suggérant des structures intra-populationnelles très diverses en termes de représentation des groupes fonctionnels. La période automnale de 2021 a été marquée par un plus grand nombre de jeunes immatures, probablement dû au fait de l'explosion démographique observée au printemps et/ou à l'automne de la même année. Les différences entre les espèces pourraient être liées aux techniques de piégeage favorisant certains groupes fonctionnels plutôt que d'autres, mais en moyenne, les espèces présentaient une structure avec environ 60% d'adultes. De plus, le nombre d'adultes augmentait progressivement le long du gradient d'anthropisation (voir **Fig. 17 B**), suggérant ainsi un biais de piégeage ou une diminution de la mortalité dans ces milieux, peut-être en raison d'une pression de prédation ou parasitaire moindre (Werner & Nunn, 2020b).

## 2. Condition corporelle

Afin de caractériser la condition physique des petits mammifères, nous avons analysé à l'aide d'une ACP (**Fig. 18**) les différentes mesures individuelles telles que la condition corporelle (BMI pour « body mass index » ; poids/longueur du corps<sup>2</sup>), la présence de signes cliniques, la présence d'ectoparasites et de macroparasites. La variabilité de ces données a été analysée en fonction des espèces, sites et périodes d'échantillonnage, du sexe et des catégories fonctionnelles à l'aide d'analyses multivariées.



**Fig. 18** Analyses en composantes principales (ACP) A. graphe des individus et B. graphe des variables de conditions physiques. Les ellipses regroupent les individus d'un même site, ces derniers sont représentés par les couleurs du gradient d'anthropisation (allant du rouge pour les parcs urbains au bleu/vert pour les réserves).

L'axe 1 de l'ACP mettait en évidence des différences individuelles associées à des signes cliniques, une présence plus élevée de macroparasites et un indice de masse corporelle (BMI) plus élevé, pouvant suggérer un surpoids (**Fig. 18**). Ainsi, les individus du parc FRPLTO, le parc le plus urbain, semblaient avoir une moins bonne « santé ». En revanche, les individus des forêts rurales avaient une plus grande prévalence d'ectoparasites (tiques et puces), ce qui pourrait les rendre plus vulnérables à l'acquisition de pathogènes transmis par ces parasites. Dans la réserve de FRFGRI, située dans l'Ain, les individus présentaient un BMI élevé par rapport aux autres forêts mais ne montraient guère de parasites ou de signes cliniques. Inversement, les individus du parc péri-urbain FRPDLL présentaient à la fois plus de signes cliniques et une présence accrue de parasites comme observé dans l'étude Mathews-Martin et al. (2020). Ceci est conforme à la méta-analyse de Murray et al. (2019), qui ont mis en évidence une relation négative entre l'urbanisation et la santé des animaux sauvages. Nos résultats sont juste donnés à titre indicatif et nécessitent des études plus approfondies pour chaque espèce de petits mammifères, telles que des mesures physiologiques et/ou immunologiques ou encore des mesures du microbiote intestinal, pour comprendre ces variations spatiales de la santé des hôtes (Kophamel et al., 2022).

**Conclusion :** Bien que l'ensemble de ces techniques soient imparfaites pour caractériser les communautés de petits mammifères forestiers, elles permettent un recensement spatio-temporel des espèces présentes, de leur abondance relative, et la caractérisation d'un large panel d'informations sur les individus capturés. La diversité des communautés sera analysée plus en détail dans les chapitres suivants (**chapitre 2 et 3**). Ces études seront bénéfiques pour les décideurs publics et les gestionnaires de sites, car elles leur permettront de mieux comprendre leur environnement et de gérer de manière plus efficace les populations de petits mammifères, que ce soit en cas de dégâts importants ou de préservation de la biodiversité. Par ailleurs, ces connaissances sont précieuses, les communautés de petits mammifères contenant des hôtes potentiels de nombreux pathogènes à risque zoonotique. Le suivi de leur composition et de leur diversité est donc crucial pour décrire et comprendre la circulation des agents pathogènes d'intérêt en santé publique ou vétérinaire, afin, *in fine*, d'adapter la surveillance éco-épidémiologique de ces pathogènes.



## IV. Caractérisation des agents pathogènes

### A. Choix des méthodes de détection et leurs limites

Il existe aujourd'hui un large panel de méthodes morphologiques, sérologiques et moléculaires, pour détecter les pathogènes de petits mammifères, dont quelques-unes, les plus connues sont décrites ci-dessous (**Tableau 1**). Chaque méthode présente des avantages et des inconvénients, il est donc important de les choisir en fonction des objectifs de l'étude ou de combiner plusieurs techniques en fonction des contraintes de temps et de financement (Aladhadh, 2023). Dans le cadre de ma thèse, nous souhaitons obtenir des données sur des systèmes multi-hôtes et multi-pathogènes. C'est pourquoi nous avons ciblé les bactéries et virus car ils regroupent un grand nombre d'agents zoonotiques liés aux petits mammifères (Han et al. 2015) et nous avons privilégié une combinaison de méthodes pour une détection de ces pathogènes la plus exhaustive possible.

La méthode de métabarcoding 16S est une technique qui permet d'analyser un grand nombre d'échantillons et de détecter toutes les bactéries présentes dans chaque échantillon. De plus, elle offre l'avantage d'être relativement peu coûteuse compte tenu de la quantité importante d'informations qu'elle peut fournir. C'est pourquoi nous l'avons choisie pour notre étude (Galan et al., 2016a). En outre, cette méthode s'appuie sur des bases de données bien établies concernant le gène 16S, ce qui facilite son utilisation. Cependant, il est important de noter que la méthode de métabarcoding 16S présente quelques inconvénients. Tout d'abord, elle se limite à la détection de la présence des pathogènes sans permettre une analyse qualitative plus poussée. De plus, sa résolution taxonomique est généralement limitée au niveau du genre et rarement à l'espèce (**Tableau 1**). Cependant, nous avons pu identifier les différentes espèces de *Mycoplasma*, car le fragment ciblé était suffisamment résolutif pour ce genre et les séquences de références disponibles étaient nombreuses.

Des méthodes moléculaires spécifiques sont disponibles pour certains pathogènes, offrant une résolution plus fine. Cependant, ces méthodes se limitent à un ou quelques pathogènes par expérimentation, et nécessitent une connaissance approfondie de ces pathogènes, ainsi de définir des amorces spécifiques (**Tableau 1**). Pour compléter notre approche de métabarcoding, nous avons réalisé quelques méthodes spécifiques. Des analyses de PCR quantitative (qPCR) ont permis de détecter les espèces pathogéniques de *Leptospira*. En parallèle, en collaboration avec VetagroSup, des approches séquençage multi-locus (MLST) ont été effectuées pour



caractériser ces espèces (voir **Encadré 2**). La présence de *Francisella tularensis* a été validée par le laboratoire national de référence de la tularémie également par séquençage multi-locus. Enfin, les espèces du genre *Borrelia* seront prochainement identifiées par méthode moléculaire spécifique en collaboration avec VetAgroSup.

**Tableau 1.** Comparaison des avantages et désavantages de différentes méthodes moléculaires (non exhaustives) de détection de pathogènes. Notons que ces paramètres peuvent dépendre de multiples facteurs comme les fournisseurs, les pays, les matériels disponibles. L'astérisque (\*) indique que la notion d'illimité dépend du gène ciblé et de la profondeur de séquençage. © Maxime Galan & Marie Bouilloud

Méthode	Type	Nb. d'échantillons par expérience	Nb. de pathogènes cibles par expérience	Découverte de nouveau pathogènes	Résolution taxonomique maximale	Prix	Avantages principaux	Inconvénients principaux
ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)	Sérologie	96	1	non	espèce	+	Rapide	Cible indirecte (anticorps)
qPCR classique	qPCR classique	384	1	non	espèce	+	Rapide et quantitatif	Un seul pathogène
qPCR BioMark HD	qPCR en microfluidique haut-débit	48	48	non	espèce	++	Rapide et quantitatif	Mise au point fastidieuse sur plusieurs mois
MLST (MultiLocus Sequencing Typing)	PCR + Séquençage Sanger	96	1	oui (souches uniquement)	espèce et souche	+++	Résolution fine	Un seul pathogène Peu sensible
16S rRNA metabarcoding	PCR + Séquençage Illumina	380	illimité (bactéries et sarcocystidae)	oui	genre (rarement espèce)	++	Universel (bactéries)	Résolution au genre maxi.
Amplicon sequencing multigénique	PCR + Séquençage Illumina	380	illimité *	oui	espèce et souche	+++	Universel et potentiellement résolutif	Bases de données de séquences de référence non-exhaustives hors 16S
ShotGun sequencing	Séquençage Illumina d'ADN total	96	illimité*	oui	espèce et souche	++++	Universel et potentiellement résolutif	Analyse bioinformatique de métagénomies complexes Séquençage non-cible (ADN de l'hôte)
RNAseq	Séquençage Illumina d'ARN	96	illimité*	oui	espèce et souche	++++	Information sur les gènes et fonctions exprimées Détection de virus et autres parasites	Analyse bioinformatique de métranscriptomique complexe ARN pas toujours disponible (dégradation) Séquençage non-cible (ARN de l'hôte)

Enfin, la circulation de plusieurs familles de virus zoonotiques (Orthohantavirus, Orthopoxvirus) a été recherchée par détection d'anticorps via des méthodes sérologiques réalisées en collaboration avec nos partenaires à Helsinki. Cette méthode est économique et rapide, mais les tests ne sont pas toujours spécifiques, et la détection d'anticorps ne permet pas de dater l'infection dans le cas d'infections chroniques par exemple (**Tableau 1**). Des analyses moléculaires par séquençage (Sanger ou Illumina) ont été appliquées pour l'étude des Orthohantavirus afin d'identifier les espèces virales en présence et d'étudier leur évolution dans les sites étudiés.

**Perspectives** : Une fois la détection des bactéries potentiellement pathogéniques effectuée par métabarcoding ARN16s, nous préconisons une approche complémentaire systématique consistant à utiliser des méthodes ciblées pour étudier de manière plus spécifique toutes les espèces ou complexes d'espèces présentes, voire même les souches spécifiques. Cela approfondirait notre compréhension des relations hôtes-pathogènes (exemple Withenshaw et al., 2016), y compris la détection d'éventuelles co-infections entre espèces ou souches de la même espèce, notamment *Borrelia* (Raileanu et al., 2017) ou *Bartonella* (Špitalská et al., 2017) qui sont connues pour avoir différentes espèces en présence chez les rongeurs.

Pour éviter d'être limité en termes de nombre de pathogènes à détecter, nous pourrions utiliser des méthodes qPCR microfluidiques (Michelet et al., 2014) (Tableau 1). Une autre approche prometteuse, le séquençage "shotgun", permettrait de détecter la présence de plusieurs souches d'une même espèce sans *a priori*, contrairement aux méthodes de qPCR. Cette méthode peut être réalisée à l'aide de technologies de séquençage de deuxième génération, telles que MiSeq Illumina ou encore en utilisant la technologie nanopore (MINION) (Stevens et al., 2023) (Tableau 1). À l'avenir, le séquençage du génome complet par méthode shotgun et/ou RNAseq pourrait constituer une approche quasi exhaustive pour identifier toutes les espèces de pathogènes, quel que soit leur embranchement (bactéries, champignons, protistes et virus). Cependant, actuellement, leur coût ainsi que le rapport entre le nombre d'individus et la profondeur de séquençage ne permettent pas leur mise en œuvre généralisée (Bharti & Grimm, 2021; Yang et al., 2016) (Tableau 1).

## B. Détection des bactéries sans a priori par métabarcoding 16S

### **Etape 1 : Analyses de biologie moléculaire**

Pour la détection des bactéries pathogènes, nous avons extrait l'ADN à partir d'un échantillon de rate préalablement conservé dans de l'alcool à 96°C. En tant qu'organe lymphoïde, la rate joue un rôle dans la filtration du sang des mammifères et est impliquée dans le système immunitaire. Par conséquent, elle est susceptible de contenir divers pathogènes (par exemple, Abbate et al., 2021 (en révision); Diagne et al., 2017, razauti et al, 2015). La rate a été découpée sous conditions de sécurité appropriées dans un laboratoire de niveau 2. Pour extraire l'ADN de chaque individu, nous utilisons le kit DNeasy Blood & Tissue (Qiagen). Nous amplifions la région V4 de l'ARNs 16S, région la plus référencée dans la base de données Silva (<http://www.arb175silva.de/projects/ssu-ref-nr/>) pour assigner les bactéries des rongeurs

(16S-V4F et 16S-V4R, 251pb) suivant le protocole de Kozich et al. (2013) et décrit dans Galan et al. (2016).

Le principe du métabarcoding est de permettre le séquençage de tous les ARNs 16S présents pour chaque échantillon étudié. Pour cela des indexs appelés 'barcodes' spécifiques à l'individu sont ajoutés à chaque fragment avant amplification (Fig. 20).

Pour garantir la qualité des séquences obtenues par séquençage, nous avons réalisé deux répliquas par individu et inclus des contrôles négatifs à chaque étape du processus (extraction, indexation et amplification) afin de vérifier l'absence de contamination, ainsi que des contrôles positifs afin de vérifier le bon déroulement du protocole. Ensuite, nous avons effectué une vérification de la qualité de la PCR (contamination) et éliminé les fragments d'ADN indésirables en procédant à une excision sur gel d'électrophorèse suivie d'une purification. Par la suite, les échantillons ont été soumis à un séquençage haut débit avec la technologie MiSeq Illumina (2 x 251pb) (Fig. 20).

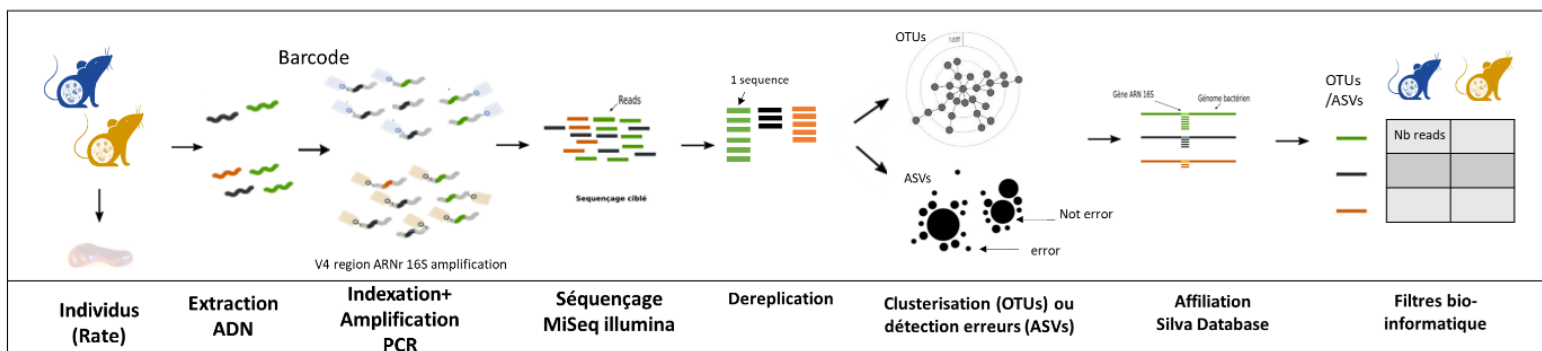


Fig. 20. Etapes de la procédure de metabarcoding. La première étape consiste à extraire l'ADN à partir des individus (ici la rate). Chaque ADN d'un individu est ensuite indexé par un barcode. L'ARNr 16S est amplifié puis séquencé. L'ensemble des lectures sont dérépliquées en une séquence unique. Une méthode de clustering pour l'acquisition d'unités taxonomiques opérationnelles (OTUs) ou une méthode de détection des erreurs pour l'acquisition des variants de séquence d'amplicon (ASVs) est choisie avant leur affiliation à des séquences de références. Différents filtres garantis de la qualité sont appliqués avant d'obtenir le nombre de lectures pour chaque OTUs/ASVs et chaque individu.

### Etape 2 : Traitement bio-informatique

Suite à cela, deux pipelines bio-informatiques ont pu être utilisés au cours de ma thèse, l'un pour générer des tables d'abondance d'unités taxonomiques opérationnelles (OTUs) par individu et l'autre pour générer des tables d'abondance de variants de séquence d'amplicon (ASVs). La première méthode (OTUs) visait à s'affranchir des erreurs de séquençage en utilisant une approche de regroupement des différentes séquences similaires avec la séquence dont le

nombre de lectures était majoritaire (Fig. 20). Ces OTUs étaient donc des ensembles de séquences pouvant regrouper plusieurs souches ou espèces bactériennes. Cette méthode a été effectuée à l'aide du pipeline Frogs ("Find Rapidly OTU with Galaxy Solution"; Escudié et al., 2018). La seconde méthode (ASVs) consistait à détecter directement les erreurs d'amplification et de séquençage sur les variants de séquences. Ces derniers peuvent alors être utilisés comme unité de mesure, plus proche alors de la réalité biologique et permettant une meilleure résolution (souche, espèce) (Callahan et al., 2017). Cette méthode est effectuée avec le pipeline dada2 (QIIME2\_2021.11)(Bolyen et al., 2019; Callahan et al., 2016). Quelle que soit la méthode utilisée, nous avons retrouvé les mêmes genres de pathogènes. Les deux pipelines utilisent les mêmes grandes étapes pour générer les tables d'abondance, hormis l'étape de regroupement (OTUs) et la détection d'erreurs (ASVs) (Fig. 20).

Brièvement, les paires de séquence de brin d'ADN R1 (brin forward) et R2 (brin reverse) ont été tronquées puis fusionnées afin de garantir la qualité des séquences. Ensuite, les séquences identiques ont été regroupées et comptabilisées en nombre de lectures et les chimères ont été supprimées. Chaque ASV ou OTU a ensuite été affilié à une séquence de référence avec BLASTN+ (Camacho et al., 2009) en utilisant la base de données SILVA la plus à jour et corrigée (Fig. 20).

Suite à cela, un filtrage a été fait selon la méthode proposée par Galan et al. (2016). Nous avons effectué les filtres suivants : i) La suppression des OTUs/ASVs dont le nombre de lectures était inférieur au nombre maximal de lectures observées pour ces mêmes OTUs/ASVs retrouvés dans un contrôle négatif d'extraction d'ADN, de la PCR, d'index ou de séquençage. ii) La suppression des OTUs/ASVs dont le nombre de lectures était inférieur au nombre maximal de lectures d'une bactérie « alien », c'est-à-dire qui ne peut pas se retrouver chez les petits mammifères. Si celle-ci est détectée cela correspond à une mauvaise affectation sur la cellule lors du séquençage. iii) Seuls les OTUs/ASVs présents dans deux répliques d'un individu étaient conservés et leur nombre de lecture était cumulé.

### ***Etape 3 : Sélection des bactéries pathogènes***

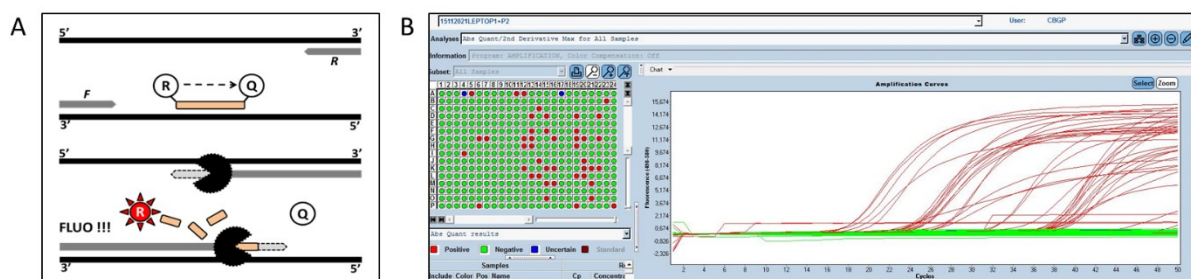
La notion de pathogénicité des bactéries est quelque peu complexe et souvent discutée, en particulier du fait de la plasticité de ce trait, et du manque de connaissances de ce caractère pour de nombreuses bactéries. Notons que seules les bactéries connues comme potentiellement pathogènes pour l'humain ou les petits mammifères sont incluses dans

l'étude. La pathogénicité des bactéries a été déterminée à l'aide de la base de données Gideon (<https://www.gideononline.com/>) et de la littérature (Abbate et al., 2021). Les pathogènes dits « opportunistes » pour les petits mammifères ou pouvant être des contaminants sont retirés du jeu de données. Pour cela, nous avons vérifié leur présence dans les contrôles négatifs et comparé au tableau de séquences obtenu à partir des colons (microbiote intestinal). Si les séquences étaient communes pour la rate et le colon d'un individu, avec une quantité supérieure observée dans les colons, nous avons considéré le taxon bactérien comme potentiellement opportuniste ou contaminant. Nous avons également exclu les bactéries environnementales.

Il s'avère que le séquençage 16S offre une faible résolution dans la détection des espèces de pathogènes à l'exception du genre *Mycoplasma*. Pour *Mycoplasma*, nous avons conservé les groupes d'ASVs identifiés comme *Mycoplasma* (syn. *Haemobartonella*) *haemomuris* et *coccoides*. Ces espèces ont été sélectionnées en raison de leur pathogénicité avérée chez les rongeurs, avec une propension à se trouver dans le sang et la rate.

### C. Détection ciblée et caractérisation des leptospires par qPCR

L'organe de réplication des leptospires est le rein. Ces bactéries sont donc rarement identifiables à partir de la rate. Pour la détection et la caractérisation des leptospires, nous avons donc appliqué une méthode de détection ciblée : la PCR quantitative en temps réel (RT-qPCR, Fig. 21).



**Fig. 21.** A. Principe de la PCR quantitative en temps réel (RT-qPCR). Les amorces (R=Reverse et F=Forwards), la sonde TaqMan marquée par le fluorochrome (R) et le quencher (Q) sont fixés au brin d'ADN sur le gène d'intérêt (si présent), La Taq polymérase, représentée par un pac-man noir dégrade la sonde, libérant le fluorochrome qui émet alors de la fluorescence. B. Résultats de la fluorescence observée sur le LightCycler LC480. Le premier tableau indiquant les puits positifs sur la plaque ; l'intensité de la fluorescence au cours des cycles. Le puits et les courbes rouges indiquent les individus positifs.

L'ADN des petits mammifères a été extrait à partir de la jonction cortico-médullaire des tissus rénaux, préalablement stockés dans l'éthanol, avec le kit BioBasic (EZ-10 96 Well Plate genomic DNA isolation kit) en suivant les instructions du fabricant.

Le gène ciblé est le gène codant pour la lipoprotéine 32-kDa (LipL32), présent dans toutes les bactéries leptospires et les amorces ont été choisies afin de n'amplifier que les leptospiroses pathogènes (Stoddard et al., 2009). Les qPCR ont été réalisées selon le protocole décrit dans Dobigny et al. (2015) à l'aide d'une sonde TaqMan et d'une Taq FastStart (Roche) sur le LightCycler LC480 (Roche Diagnostics). Tous les échantillons ont été dupliqués et des contrôles positifs et négatifs ont été inclus dans chaque plaque.

#### D. Détection d'anticorps anti-virus par des méthodes sérologiques

Les analyses sérologiques sont réalisées par nos partenaires finlandais pour la détection des anticorps anti-virus appartenant aux genres *Orthohantavirus*, *Orthopoxvirus*. Ces analyses sont réalisées par l'approche d'immunofluorescence indirecte (IFA, **Fig. 22**). Cela consiste à utiliser un substrat contenant des antigènes préalablement développés en culture. Lorsque du sang est déposé sur ce substrat, les anticorps spécifiques à ces antigènes vont se fixer s'ils sont présents dans le sang. Les autres anticorps sont éliminés par plusieurs étapes de lavage. Ensuite, des anticorps fluorescents spécifiques des anticorps (anti-anticorps) sont ajoutés. Si les anticorps spécifiques étaient présents dans le sang, ils se fixent sur les anticorps fluorescents. En revanche, s'ils ne sont pas présents, ces anticorps fluorescents sont éliminés par des lavages supplémentaires. Enfin, en observant l'échantillon au microscope à

fluorescence, on peut détecter la présence d'une fluorescence accrue chez les individus séropositifs qui possèdent des anticorps dirigés contre le virus.

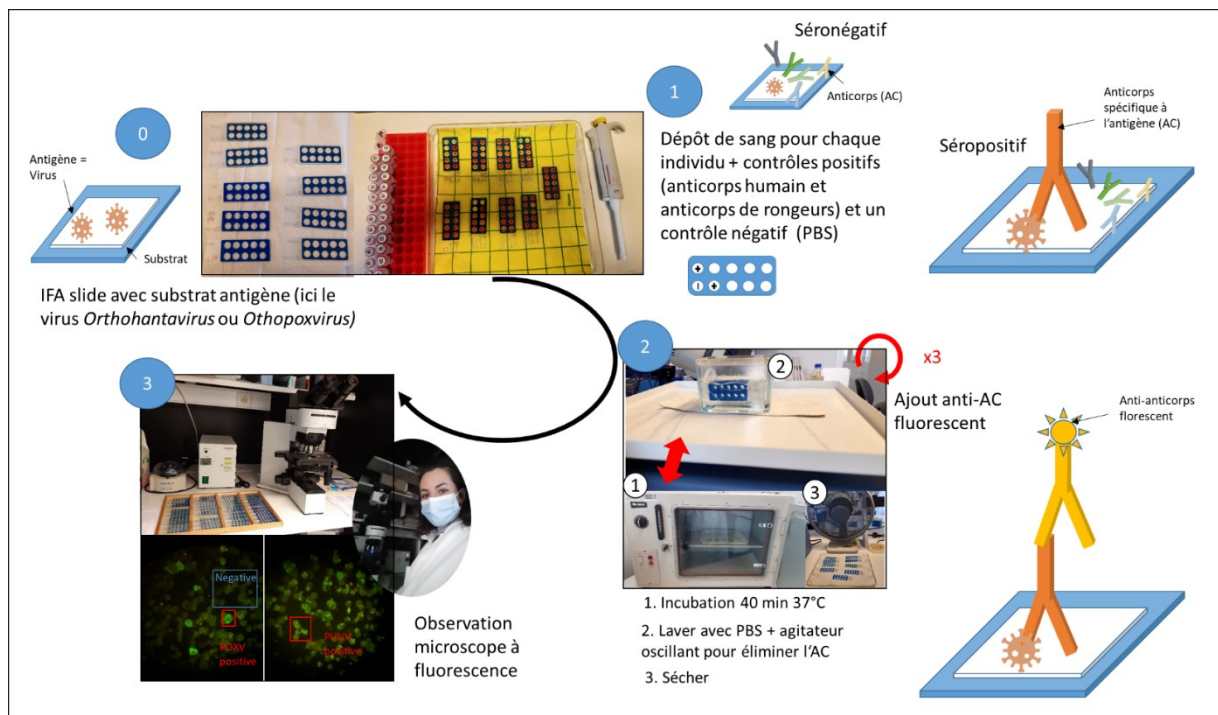


Fig. 22. Différentes étapes de l'immunofluorescence indirecte (IFA). Photographies prises dans le laboratoire risque 3 en Finlande.

**Conclusion :** Dans notre étude, nous avons adopté une approche plurielle, combinant à la fois le metabarcoding 16S non ciblé pour détecter les bactéries, ainsi que des méthodes ciblées (qPCR et sérologie) pour étudier des pathogènes connus chez les rongeurs. Cette approche multi-hôtes multi-pathogènes nous a permis d'identifier avec succès les principaux pathogènes chez de nombreux hôtes, malgré certaines limites inhérentes aux méthodes utilisées. En outre, nous avons bénéficié de précieuses collaborations pour compléter certaines de nos analyses. Les résultats obtenus grâce à ces approches ont fourni des informations essentielles sur la présence, la caractérisation et l'impact des pathogènes chez les hôtes étudiés. Nous recommandons vivement l'utilisation de ces approches intégrées pour de futures études sur les pathogènes.



## V. Communauté de pathogènes et éco-épidémiologie

### A. Communauté de pathogènes détectés

Les différentes approches de détection de pathogènes que nous avons appliquées aux petits mammifères échantillonnés au cours de cette thèse ont permis d'identifier 14 agents pathogènes. Le metabarcoding 16S a permis de détecter 9 genres bactériens potentiellement zoonotiques (*Bartonella*, *Neoehrlichia*, *Anaplasma*, *Francisella*, *Rickettsia*, *Orientia*, *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Brevinema*) ainsi que des Sarcocystidae. La qPCR a révélé la présence de *Leptospira* pathogéniques, et les analyses sérologiques ont permis de détecter des anticorps anti-virus de quatre genres zoonotiques (Orthohantavirus, Orthopoxvirus, Mammarenavirus et Flavivirus). Les caractéristiques de ces agents pathogènes sont décrites dans le **Tableau 2**. Nous renseignons d'une part, leur taxonomie, leur mode de transmission (Han et al., 2021), des exemples d'espèces pathogènes appartenant aux genres détectés, les maladies zoonotiques associées, leur virulence chez l'humain et ou chez les petits mammifères (**Tableau 2**).

Les modes de transmission ou la virulence chez l'humain n'impliquent pas le même risque zoonotique ou les mêmes conséquences sanitaires et sociales. Certains pathogènes sont connus pour être virulent pour les petits mammifères uniquement, mais ils pourraient avoir un impact sur la sensibilité de l'hôte aux autres pathogènes zoonotiques (Devi et al., 2021), c'est pourquoi nous avons gardé ces pathogènes. Nous avons réalisé des analyses préliminaires pour évaluer de potentiels impacts des infections par ces pathogènes sur la condition physique des petits mammifères hôtes (encadré 1).

**Encadré 1.** Julien Ferrero, un étudiant de M1 que j'ai co-encadré, a mené une étude préliminaire sur l'impact des pathogènes sur la santé des hôtes rongeurs. Nous avons ciblé des pathogènes connus pour affecter cette dernière, tels que le *Cowpox Virus*, le genre *Mycoplasma* et les *Sarcocystidae*. L'étude s'est focalisée sur le genre *Apodemus* et nous avons utilisé des indices de condition physique et de diversité microbienne (voir **chapitre 3**) comme indicateurs de la santé des individus. Les analyses n'ont pas permis de révéler d'impacts de l'infection par ces pathogènes sur la condition physique ou sur la diversité du microbiote intestinal des hôtes. Il est nécessaire d'utiliser d'autres critères individuels comme proxy de la santé de l'hôte, notamment des mesures physiologiques ou immunologiques.

**Tableau 2.** Description des caractéristiques des pathogènes détectés, dont la taxonomie, le mode de transmission, ainsi que des indications sur la maladie/virulence des espèces connues comme étant pathogènes pour les humains et/ou les petits mammifères. La couleur verte indique une absence de symptôme et la couleur jaune une virulence modérée, alors que la couleur rouge indique une virulence importante chez les humains ou les petits mammifères.

Type	Méthode de détection	Pathogènes	Phylogénie	Pathogènes zoonotiques	Mode de Transmission (Han et al., 2021)	Maladie/Pathologie	Virulence chez l'homme (classe risque)	Virulence de l'hôte rongeurs	Références
Bactéries	Métabarcoding	<b>Bartonella sp</b>	Proteobacteria Alphaproteobacteria Rhizobiales Rhizobiaceae Bartonella	multi souches	vector - puces et acariens (direct non exclus)	Bartonellosis, maladie de Carrion, la maladie des griffes du chat, fièvre des tranchées	Léger, fièvre maux de têtes , cas grave : endocardite, la lymphadénopathie et la neuroéritnie; (mortel immunodéprimé) cas de la maladie griff du chat : Prévalence sous estimées en France ,ganglions, Maladie généralement bénigne guérissant sans séquelle. Cas graves exceptionnels (atteintes oculaires,neurologiques, cardiaques...).	oui en co-infection avec mycoplasma	Krugel et al. 2022 ; Eideimann et al. 2019
		<b>Neoehrlichia sp</b>	Proteobacteria Alphaproteobacteria Rickettsiales Anaplasmataceae Candidatus Neoehrlichia	Neoehrlichia (Candidatus Neoehrlichia mikurensis) Ehrlichia multi souches	vector - tiques	Ehrlichiose	Asymptomatique ou infection immunodéprimé (infection autres animaux)	asymptomatique non confirmé	Vera Rar 2011
		<b>Anaplasma sp</b>	Proteobacteria Alphaproteobacteria Rickettsiales Anaplasmataceae Anaplasma	Anaplasma marginale, centrale ou ovis, Anaplasma phagocytophilum	vector - tiques	Anaplasmose	Fièvre, Symptômes pseudo-grippaux, complications respiratoires, des infections opportunistes, des complications neurologiques et une insuffisance rénale. L'infection est généralement bénigne	asymptomatique non confirmé	vera Rar 2012, https://www.gov.mb.ca/health/publichealth/diseases/anaplasmosis.fr.html
		<b>Francisella tularensis*</b>	Proteobacteria Gammaproteobacteria Francisellales Francisellaceae Francisella tularensis	Francisella tularensis	vector - tiques et moustiques/ environnement hydro-tellurique	Tularemia	Symptômes pseudo-grippaux, méningite, taux de mortalité de 1% mais peu aller jusqu'à 24% selon les souches (risque de niveau 3)	asymptomatique non confirmé	Maurin 2020
		<b>Rickettsia sp</b>	Proteobacteria Alphaproteobacteria Rickettsiales Rickettsiaceae Rickettsia	multi souches (cas des R. rickettsii plus virulentes)	vector - acariens	Fièvre pourprée des montagnes Rocheuses (FPMR), fièvre pourprée sud-américaine, fièvre maculosa, fièvre manchada, fièvre pourprée du Nouveau Monde, fièvre pétiétiiale, fièvre à tiques, typhus de São Paulo	Fièvre, une sensation de malaise, des maux de tête, l'anorexie, des nausées, des vomissements, des douleurs abdominales, une photophobie, une diarrhée et des raideurs au niveau de la nuque ; On a observé chez 40 % de tous les patients des anomalies neurologiques, notamment un méningisme, des convulsions, une altération de l'état mental, une surdité temporaire, une léthargie et une amnésie; 20% potentiellement mortelle (cas modéré à grave)	asymptomatique non confirmé	Filipe Dantas-Torres 2007: https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/biosecurite-biosurete-laboratoire/fiches-techniques-sante-securite-agents-pathogenes-evaluation-risques/rickettsia-rickettsii.html https://www.academie-medicine.fr/le-dictionnaire/index.php?q=%3Cem%3ERickettsia%20conorii
		<b>Orientia sp</b>	Proteobacteria Alphaproteobacteria Rickettsiales Rickettsiaceae Orientia	Orientia tsutsugamushi	vector acarien	Typhus des broussailles	Maux de tête, de la fièvre, des éruptions cutanées, des myalgies et une escarre indolore au site de la piqûre de l'acarien. Non traitée, la maladie peut s'aggraver et entraîner une défaillance multiviscérale et la mort ; infecte au moins un million de personnes chaque année	asymptomatique non confirmé	Wangsongtichon et al 2020
		<b>Chlamydia sp</b>	Verrucomicrobiota Chlamydiae Chlamydiales Chlamydiaceae Chlamydia	multi souches (C. abortus, C. felis, C. psittac)	direct / environnemental	Chlamydieuse	Fièvre, des maux de tête et des nausées. La maladie peut causer un avortement, des mort-nés ou des naissances prématurées,d'autres souches peuvent une conjonctivite chez l'humain, d'autres souches sont asymptomatiques chez l'humain mais symptomatiques chez des animaux	asymptomatique non confirmé	Gernot Rohde et al. 2010 - https://www.quebec.ca/agriculture-environnement-et-ressources-naturelles/sante-animale/maladies-animales/liste-maladies-animales/Chlamydieuse
		<b>Mycoplasma</b>	Firmicutes Bacilli Mycoplasmatales Mycoplasmataceae Mycoplasma	multi souches	vector (tiques, autres ? )	?	Anémie chez une grande variété de mammifères, détection chez des patients humains malades mais origine de la pathogénéicité non démontré	oui	Ricardo et al. 2013, Eideimann et al. 2019, Garrido et al. 2021
		<b>Brevinema</b>	Spirachaetales Brevinematales Brevinema	Brevinema andersoni (autres souches?)	vector	?	Allant du syndrome grippal à l'atteinte multiviscérale avec syndrome hémorragique (20% 1 million de cas sévères de leptospirose humaine sont estimés chaque année, dont 60 000 décès, 10% de mortalité estimée	oui	Patadia et al. 2020
		<b>Leptospira sp</b>	Spirachaetales, Spirochaetales, Leptospiraceae	multi souches	direct/environnemental (eau)	Leptospirosis	Eruption pustuleuse , la fièvre et des frissons, symptômes grippaux - vaccin antivaricelle	asymptomatique	https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/leptospirose
Anticorps VIGES	IFA	<b>Orthopox virus</b>	Bamfordvirae Nucleocytovirata Poxvirales Chitovirales Poxviridae Orthopoxvirinae	POXV	direct	Varioles	Eruption pustuleuse , la fièvre et des frissons, symptômes grippaux - vaccin antivaricelle	oui	Neil M.Vora et al., 2015
		<b>Orthohantavirus SEOV</b>	Riboviria Negamavirata Ellioviricetes Bunyvirales Hantaviridae Orthohantavirus	SEOV	direct	fièvre hémorragique avec syndrome rénal (FHSR)	Fièvre hémorragique avec syndrome rénal (FHSR) , La gravité de la maladie peut varier de légère à sévère (1 à 2 % de mortalité) pas de traitements (classes)	persistante et asymptomatique	Alburkat et al 2023 ; Reynes et al 2017
		<b>Orthohantavirus PUUV</b>	Riboviria Negamavirata Ellioviricetes Bunyvirales Hantaviridae Orthohantavirus	PUUV	direct	fièvre hémorragique avec syndrome rénal (FHSR)	néphropatie - Fièvre, abdominal d'ordre et maux de tête, 68% des cas positifs ont été hospitalisés dans le Jura- Traitement symptomatique (classe 2)	persistante et asymptomatique	Brun et al 2022
Eukaryotes	Méta barcoding via l'apicomplexe détectables en 16s	<b>Sarcocystidae</b>	Apicomplexa, Conoidisida, Eucoccidiorida, Eimeriorina, Sarcocistidae	multi souches (toxoplasma, eimeria)	direct	toxoplasmosse , coccidiose (pas zoonotique chez l'homme)	oui, capables d'infecter toutes les espèces de vertébrés	Duszynski 2016	

De plus les pathogènes retrouvés sur l'ensemble des données recueillies pouvaient être différents en termes de prévalences observées: certaines étaient très élevées (*Bartonella* : 48.0 % ; *Mycoplasma haemomuris* 32.7%, Orthopoxvirus : 13.5%), d'autres étaient modérées (*Mycoplasma coccoides* 13.4%, Sarcocystidae 11.7%, *C. Neohrlichia* 11.9% ; *Leptospira* sp. : 5.0 %, *Francisella* 5.3%, orthohantavirus 5,3%), tandis que la prévalence des autres pathogènes était anecdotique (<5%).

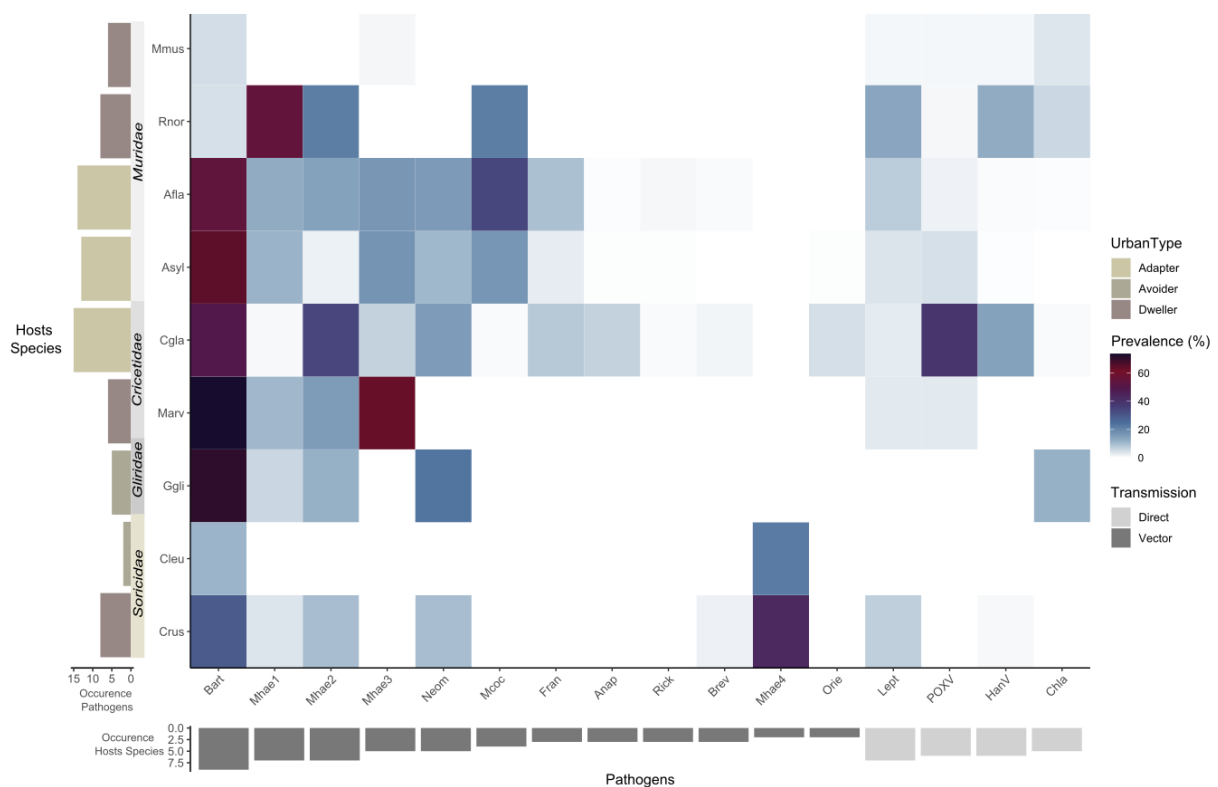
Certains pathogènes étaient généralistes, présents chez différentes espèces hôtes, notamment les différents mycoplasmes, à l'exception de la souche 4 spécifique aux crocidures, ainsi que les *Bartonella*, retrouvées chez toutes les espèces (**Fig. 23**). D'autres pathogènes, tels que *C. Neohrlichia* et ceux dont le mode de transmission était environnemental, comme les leptospires ou les *Orthopoxvirus*, étaient également présents chez un grand nombre d'espèces (**Fig. 23**). Ces espèces présentes chez un grand nombre d'espèces étaient généralement les plus prévalentes.

Cependant, la prévalence de ces pathogènes montrait des variations spatio-temporelles dans les communautés de petits mammifères. Il est donc nécessaire de les étudier de manière plus détaillée pour mieux comprendre leur distribution et leur impact.

## B. Variations spatio-temporelles de la communauté de pathogènes

### 1. Synthèse globale de la variation spatio-temporelle de l'ensemble des pathogènes

**Cette section offre une vue d'ensemble des variations spatio-temporelles de tous les pathogènes étudiés.** Pour cela, nous avons analysé le nombre de pathogènes présents selon le type d'espèce hôte ou l'habitat en utilisant un modèle linéaire généralisé (GLM) de famille poisson. Ensuite, nous avons utilisé un modèle linéaire généralisé mixte optimisé (GLMM) pour étudier l'influence de divers facteurs tels que l'espèce hôte, le sexe, le groupe fonctionnel, la période et le site d'échantillonnage sur la présence/absence de tous les pathogènes confondus, en prenant en compte l'individu comme facteur aléatoire.



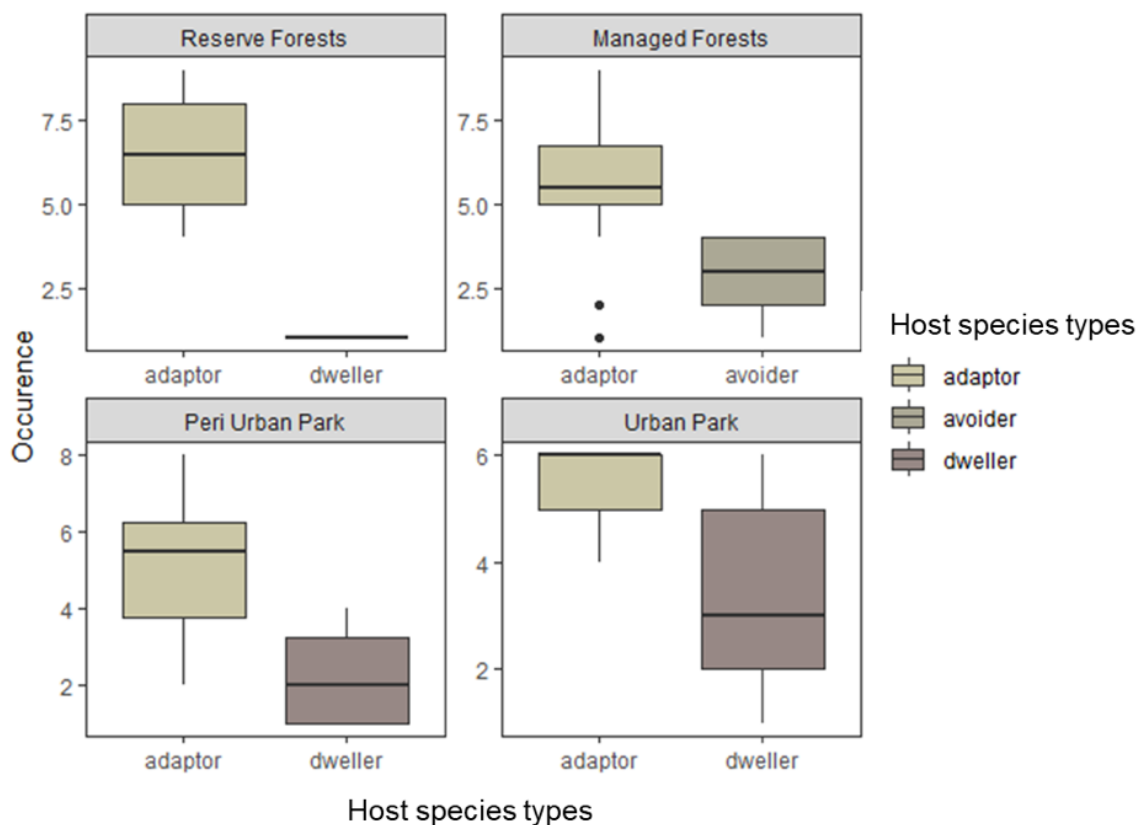
**Fig. 23.** Heatmap de la prévalence des différents pathogènes en fonction des espèces hôtes de petits mammifères (représentée par des barres verticales indiquant les familles de ces espèces. Les nuances de couleurs allant du bleu clair au violet foncé indiquent les valeurs de prévalence. Le graphique en barres verticales représente le nombre de pathogènes par espèces hôtes de petits mammifères, où les couleurs varient en fonction du type d'habitat de l'espèce : jaune pour les espèces qualifiées comme étant des 'adaptateurs urbains', jaune-gris pour les espèces 'd'éviteurs urbains', et gris-rouge pour les espèces 'citadines'. Le graphique en barres horizontales inversées indique le nombre d'espèces hôtes où le pathogène est présent. Les teintes claires représentent les pathogènes à transmission directe, tandis que les teintes foncées indiquent les pathogènes dont la transmission dépend de vecteurs.

**Le nombre de pathogènes variait selon les espèces de petits mammifères**, indiquant des différences de capacité de réservoirs chez ces dernières (**Fig. 24**). Cette capacité de réservoir peut être liée aux traits d'histoire de vie et à la phylogénie des espèces hôtes (Luis et al., 2013). Une hypothèse suggère que le rythme de vie court est lié à une faible allocation d'énergie dans l'immunité (Lee, 2006), mais cela ne suffit pas à expliquer les différences entre les espèces adoptant toutes des stratégies de vie relativement courte. Selon une méta-analyse récente, il est indiqué que la coexistence des rongeurs dans le même habitat (sympatrie) a plus d'impact sur la diversité virale que leur parenté phylogénétique (Guy et al., 2019).

Dans nos données les espèces ayant le plus grand nombre de pathogènes ne semblaient pas être proches de par leur taxonomie ou leur rythme de vie (voir III. Caractérisation des espèces hôtes), mais plutôt par leur capacité d'adaptation au milieu urbain. Les espèces adaptatrices

urbaines-présentait un nombre plus élevé de pathogènes que les espèces citadines (Test de Tukey,  $z = -4.254$ ,  $p < 0.001$ ) ou celles évitant les milieux urbains (Test de Tukey,  $Z = -3.073$ ,  $P = 0.005$ ), même lorsque les espèces hôtes étaient en sympatrie (**Fig. 24**).

La prévalence d'infection variait significativement entre les espèces hôtes ( $P < 2.2e-16$ ) et les taxons de pathogènes ( $P < 2.2e-16$ ). De plus, la prévalence d'un pathogène pouvait varier entre les espèces hôtes, ce qui témoigne de différences de compétences (capacités de réplication et de transmission d'un pathogène) parmi les espèces de petits mammifères (**Fig. 23**). Malgré leur apparente forte capacité de réservoir (capacité d'abriter de nombreux pathogènes), les espèces adaptatrices urbaines ne présentaient pas toujours les prévalences les plus élevées pour certains pathogènes (**Fig. 23**). Par conséquent, il est essentiel d'étudier plus en détail les relations entre les espèces hôtes et les pathogènes.



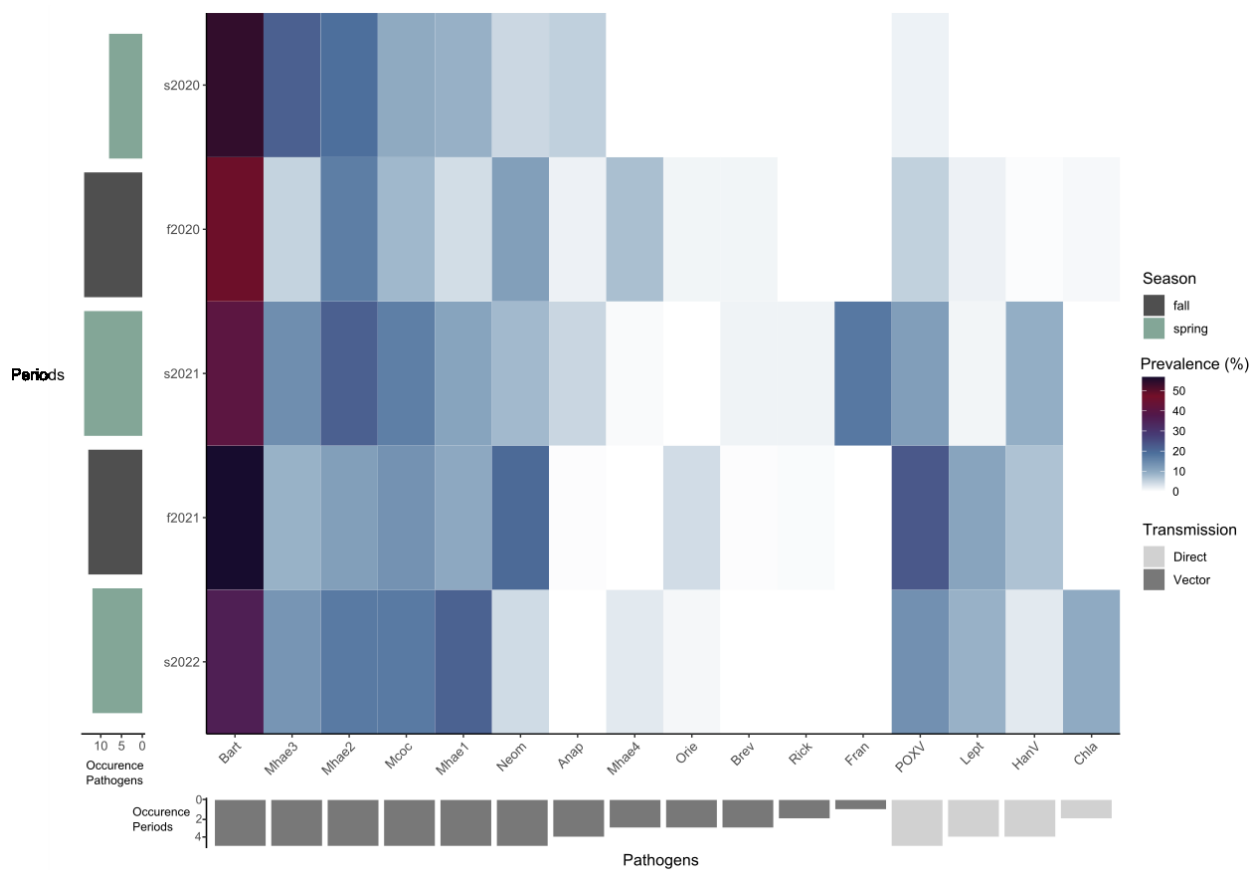
**Fig. 24.** Nombre de pathogènes détectés dans les différentes espèces hôtes (occurrence), selon la catégorie de sites (réserves, forêts exploitées et parcs péri-urbain ou urbain) et leur capacité d'adaptation au milieu urbain (citadines, adaptatrices ou éviteurs) représentée ici par différentes couleurs.

**Le groupe fonctionnel et le sexe** influençaient la présence de l'ensemble de pathogènes : Les adultes étaient généralement plus infectés que les jeunes immatures ( $\beta=0.83$ ,  $Z= 13.0$ ,  $P=< 2.2e-16$ ) et les mâles plus susceptibles que les femelles ( $\beta =0.24$ ,  $Z= 4.31$ ,  $P=1.6e-05$ ). Cette différence pourrait être attribuée aux anticorps maternels qui protègent les jeunes immatures (ex. Borucki et al., 2000) et/ou à une susceptibilité accrue des adultes mâles en raison de leur exposition accrue due à leur comportement sexuel ou pour la recherche de nourriture (Henttonen, 2022). Une accumulation de pathogènes avec l'âge, notamment dans le cas d'infections chroniques et persistantes, peut également expliquer ce patron (Luis et al., 2013).

**Concernant les périodes d'échantillonnage**, entre le printemps 2020 et l'automne 2020, le nombre de pathogènes détectés a augmenté de 8 à 14. Le site FRPDLL n'a été échantillonné qu'à l'automne, et aucune capture de rats et de crocidures n'a eu lieu au parc de la Tête d'Or (FRPLTO) pendant cette période. Cette augmentation coïncide avec la croissance et le pic de densité de population des petits mammifères. Globalement, le nombre de pathogènes entre l'automne 2020 et l'automne 2021 est resté constant, avec une légère baisse entre l'automne 2021 et le printemps 2022, correspondant à une diminution du pic de densité de population des petits mammifères et ou de leurs vecteurs.

La prévalence totale de pathogènes variait au cours des périodes, avec un pic à l'automne 2021 (GLMM,  $\beta=0.59$ ,  $Z=6.51$ ,  $P=7.14e-11$ ). De plus, la prévalence pouvait également varier selon les pathogènes, indiquant des facteurs environnementaux favorables à certains d'entre eux. Par exemple, la bactérie *Francisella tularensis* n'a été détectée qu'au printemps 2021 (prévalence=17,5%). Pour mieux comprendre ces différences, une étude sur une période plus longue et une analyse détaillée des changements environnementaux associés serait nécessaire.





**Fig. 25.** Heatmap de la prévalence des différents pathogènes en fonction des périodes d'échantillonnage. Les nuances de couleurs allant du bleu clair au violet foncé indiquent les valeurs de prévalence. Le graphique en barres verticales représente le nombre de pathogènes par période, où la teinte verte foncée correspond à l'automne et le vert clair au printemps. Le graphique en barres horizontales inversées indique le nombre de périodes d'infection par pathogène. Les teintes claires représentent les pathogènes à transmission directe, tandis que les teintes foncées indiquent les pathogènes dont la transmission dépend de vecteurs.

**Entre les sites d'échantillonnage,** le nombre de pathogènes différait entre régions et le long du gradient d'anthropisation (**Fig. 26**). La région du Rhône, qui n'incluait que des parcs urbains, présentait un nombre moins élevé de pathogènes (**Fig. 26**). Ces disparités régionales pourraient être attribuées à des différences environnementales, de degré d'anthropisation ou de biodiversité des petits mammifères. De plus, il est plausible que cette divergence soit attribuable au fait que la plupart des pathogènes détectés étaient vectorisés par des tiques, et étaient absents du parc de la Tête d'Or (FRFPLTO), un parc fortement urbanisé, enclavé dans la ville de Lyon, non connecté aux grands massifs forestiers, où les tiques sont très peu présentes.

La prévalence totale de pathogènes présentait des variations significatives entre les sites d'échantillonnage (GLMM,  $\chi^2$  test,  $P = 3.647e-05$ ). Cependant, aucune corrélation claire n'a

été observée avec la région, le type d'habitat ou le niveau d'anthropisation. En revanche, la prévalence variait en fonction des sites et des pathogènes, indiquant des habitats préférentiels pour certains pathogènes (Fig. 26). Par exemple, *Francisella*, *Anaplasma*, *Orthohantavirus PUUV* et *Orientia* étaient préférentiellement retrouvés dans les forêts du Jura (Fig. 26). Nous étudierons ces différences et les mécanismes sous-jacents dans une étude plus approfondie, qui sera présentée dans le chapitre 2.

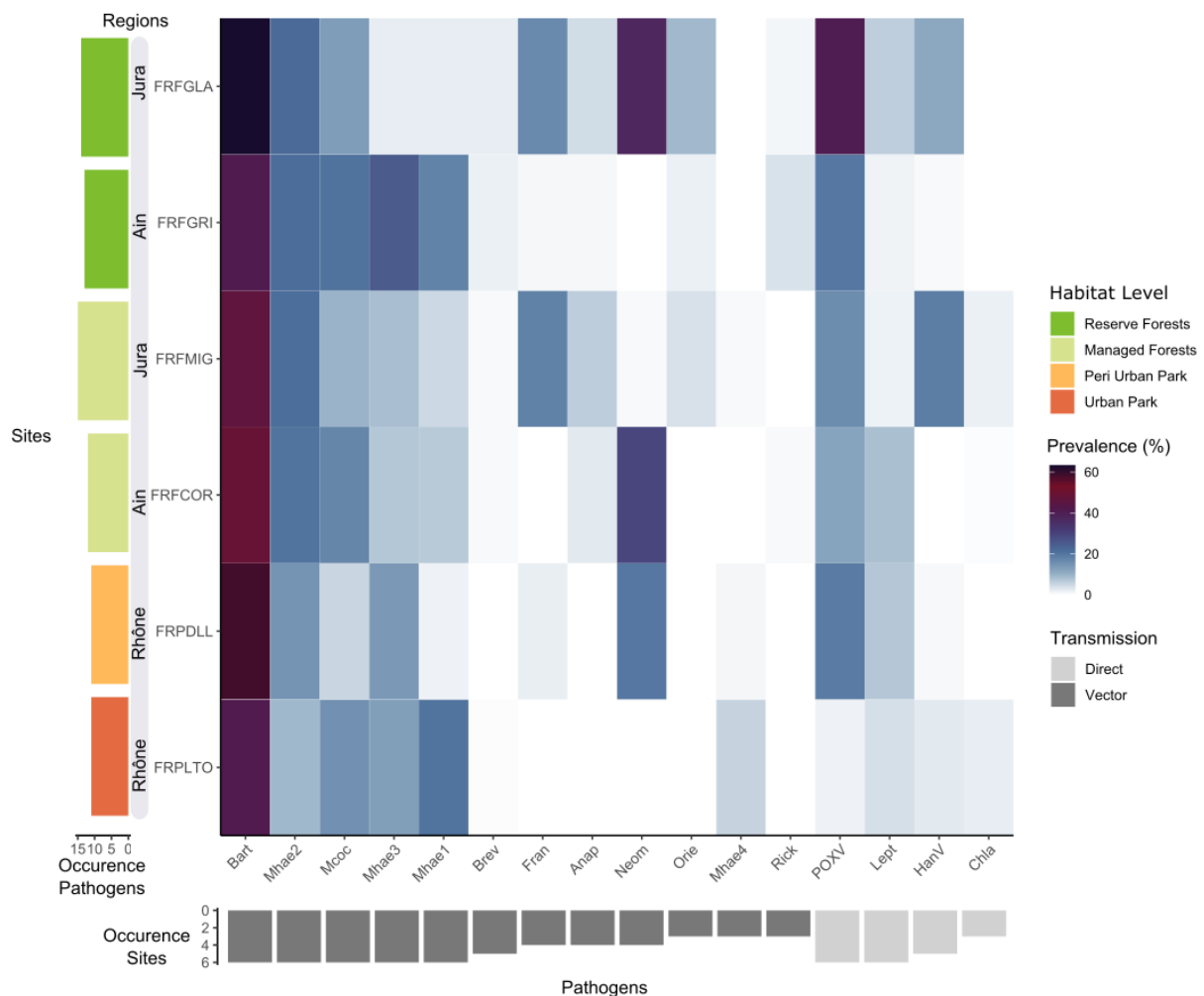


Fig 26. Heatmap de la prévalence des différents pathogènes en fonction des sites d'échantillonnage (FRPLTO= Parc de la Tête d'Or, région Rhône ; FRPDLL= Lacroix Laval, Rhône ; FRFCOR= Cormaranche, Ain ; FRFMIG=Mignovillard, Jura ; FRFGRI= Griffes du diable, Arvière Ain ; FRFGLA= La Glacière, Jura). Les nuances de couleurs allant du bleu clair au violet foncé indiquent l'intensité de la prévalence. Le graphique en barres verticales représente le nombre de pathogènes par site, où les couleurs varient en fonction du type d'habitat, allant de l'orange (habitats les plus anthropisés) au vert (habitats les moins anthropisés, comme les réserves). Le graphique en barres horizontales inversées indique le nombre de sites où le pathogène est présent. Les teintes claires représentent les pathogènes à transmission directe, tandis que les teintes foncées indiquent les pathogènes dont la transmission dépend de vecteurs.

Des études éco-épidémiologiques plus poussées ont été menées sur trois agents zoonotiques d'intérêt (*Leptospira*, virus Seoul et virus Puumala), en collaboration avec les équipes de VetAgroSup et d'Helsinki, et sont présentées ci-dessous. De plus, certains pathogènes présents tout le long du gradient d'anthropisation (*Mycoplasma*, *Orthopoxvirus*, *Bartonella*, *Leptospira*) sont analysés plus en détail dans le **chapitre 2**.

### C. Etudes spécifiques menées sur quelques pathogènes zoonotiques

#### 1. Zoom sur les *Leptospires*

Une étude approfondie des espèces pathogènes et serovars de leptospires circulant dans les parcs urbains de Lyon a été menée par l'équipe de Z. Djelouadji (vetAgro Sup). Elle a permis de décrire la prévalence, la diversité génétique des leptospires et les facteurs biotiques et abiotiques influençant sa distribution dans les communautés de petits mammifères de la ville de Lyon.

La leptospirose est une maladie zoonotique répandue causée par des spirochètes pathogènes du genre *Leptospira*. C'est un problème de santé publique important avec plus d'un million de cas humains chaque année (Fichet-Calvet & Rogers, 2009). Les rongeurs sont reconnus comme les principaux réservoirs de *Leptospira*, en particulier les rats qui hébergent principalement le sérovar *Icterohaemorrhagiae*, largement répandu dans le monde entier (Boey et al., 2019). Plusieurs études ont montré l'importance d'autres réservoirs, tels que les souris ou les hérissons, qui hébergent d'autres sérovats de leptospires (Aviat et al., 2009; Ayrat et al., 2016; Izquierdo-Rodríguez et al., 2020). Cependant, notre connaissance des souches de *Leptospira* circulant chez les réservoirs autres que les rats dans les environnements urbains reste limitée. Dans ce contexte, nous avons développé une approche EcoHealth pour évaluer le danger zoonotique associé aux leptospires dans les espaces verts urbains, où les contacts entre les humains, les petits mammifères et les animaux domestiques sont probables. Les objectifs de cette étude étaient de : i) évaluer la prévalence des *Leptospira* spp. pathogènes chez les petits mammifères terrestres présents dans les parcs urbains et périurbains de Lyon, ii) étudier les facteurs pouvant influencer les niveaux de prévalence, et iii) caractériser la diversité des souches de *Leptospira* circulant dans ces communautés de petits mammifères.

Les petits mammifères terrestres (rongeurs et musaraignes) ont été piégés au printemps et à l'automne, entre 2020 et 2022, dans deux parcs de la métropole de Lyon, en France. Les reins

des animaux ont été analysés pour détecter une infection à *Leptospira* en utilisant la RT-PCR pour les gènes lipL32 et 16S rRNA. La prévalence des leptospires pathogènes a été déterminée. Une régression logistique à effets mixtes a été réalisée pour étudier l'influence de différents facteurs sur la présence de *Leptospira* chez les animaux (espèce, poids, sexe, maturité sexuelle) et les caractéristiques d'échantillonnage (année, saison, site). Le génotypage des souches de *Leptospira* circulant dans ces communautés de petits mammifères a été réalisé en utilisant une combinaison de méthodes moléculaires.

L'analyse de 595 petits mammifères, comprenant sept espèces (*Rattus norvegicus*, *Mus musculus*, *Apodemus flavicollis*, *Apodemus sylvaticus*, *Clethrionomys glareolus*, *Microtus arvalis* et *Crocidura russula*), a révélé un taux de prévalence global de leptospires de 11,4 %. Des variations significatives ont été observées entre les espèces de petits mammifères (de 0 à 26,1 %), avec *Rattus norvegicus* présentant les niveaux d'infection les plus élevés (26,1 %). Nous avons également constaté que la probabilité d'être infecté par *Leptospira* était plus élevée dans le parc péri-urbain que dans le parc urbain, en 2022 et 2021 par rapport à 2020, et en automne par rapport au printemps. Les analyses de génotypage ont montré que tous les rongeurs étaient infectés par l'espèce *L. interrogans*. Nous avons trouvé le génotype lié au sérotype *Icterohaemorrhagiae* chez les rats, et des génotypes liés au sérotype *Australis* chez d'autres espèces de rongeurs (souris domestiques, mulots sylvestres, mulots à collier et campagnols des champs). L'espèce *L. kirschneri* et un génotype lié au sérotype *Grippotyphosa* ont été détectés chez les musaraignes.

Cette étude a montré une présence significative de leptospires chez les petits mammifères terrestres dans les parcs de la ville de Lyon. Nous avons observé d'importantes variations spatio-temporelles de la prévalence. Le danger zoonotique associé à *Leptospira* semblait être plus élevé dans le parc péri-urbain et en automne, en 2021 et 2022, potentiellement en raison des différences de paysage, des conditions abiotiques et de la composition des communautés de petits mammifères. Nous avons également révélé des différences significatives de prévalence de *Leptospira* et de souches circulantes entre les espèces de petits mammifères. La surveillance des rats, et dans une moindre mesure d'autres rongeurs (*Apodemus spp.*, *Clethrionomys glareolus* et *Mus musculus*), semble être d'intérêt en santé publique et vétérinaire pour prévenir les infections par *L. interrogans*. Nous avons également souligné le danger potentiel associé à la musaraigne *Crocidura russula* et à *Leptospira kirschneri*.

# Pathogenic *Leptospira* species in small terrestrial mammals, genetic diversity and ecoepidemiology in Lyon's urban and peri-urban parks

GARCIA-LOPEZ Marta<sup>1,2</sup>, LURIER Thibaut<sup>3</sup>, BOUILLOUD Marie<sup>4</sup>, PRADEL Julien<sup>4</sup>, TATARD Caroline<sup>4</sup>, BOURHY Pascale<sup>2</sup>, CHARBONNEL Nathalie<sup>4</sup> and DJELOUADJI Zouheira<sup>1</sup>

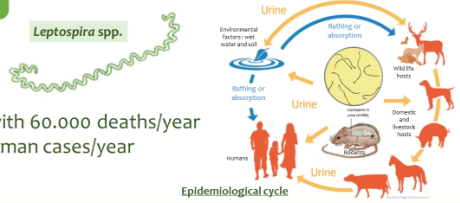
<sup>1</sup> VetAgro Sup - USC 1223; <sup>2</sup> Institut Pasteur - Biology of Spirochetes Unit; <sup>3</sup> VetAgro Sup - UMR EPIA; <sup>4</sup> INRAE - CBGP



## Introduction

### Leptospirosis

Bacterial zoonotic disease  
 → One million human cases with 60.000 deaths/year  
 → Mainland France: > 600 human cases/year  
 Rodents: chronic carriers



## Objectives

Eco-health approach to assess the health hazard associated with *Leptospira* spp. in urban green spaces:

- 1) Evaluate the prevalence of pathogenic *Leptospira* spp. in small terrestrial mammals present in urban and peri-urban parks in Lyon, France.
- 2) Characterize circulating *Leptospira* strains.
- 3) Document the biotic factors, that shape these variations of *Leptospira* spp. prevalence.

## Materials and Methods

### 1. Project

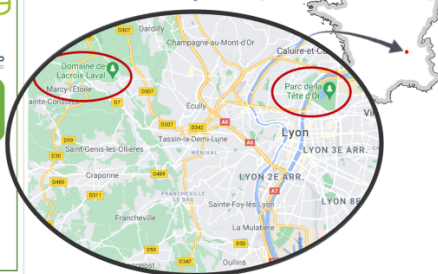
Study the links between animal biodiversity and zoonotic diseases

**THREE MAIN OBJECTIVES**

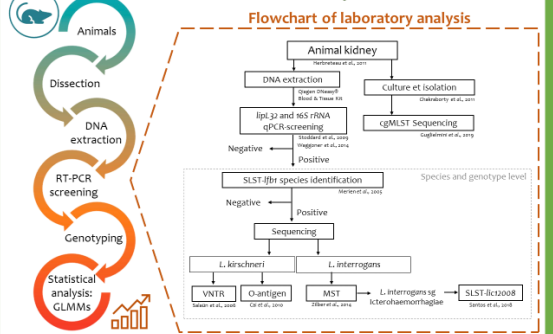
1. Biodiversity of small mammals species
2. Biodiversity of pathogens carried by their animals
3. Factors of transmission

### 2. Study areas

3 years / 2 sessions per year  
 2 sites in Lyon { - Urban park  
 - Peri-urban park



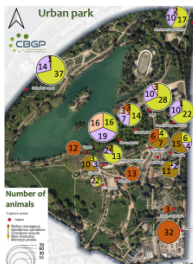
### 3. Sample collection, *Leptospira* spp. screening, genotyping and statistical analysis



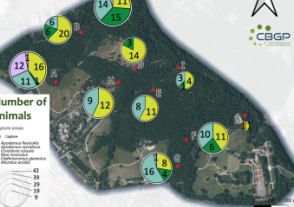
## Results

Population captured:  
 7 species  
 n=626

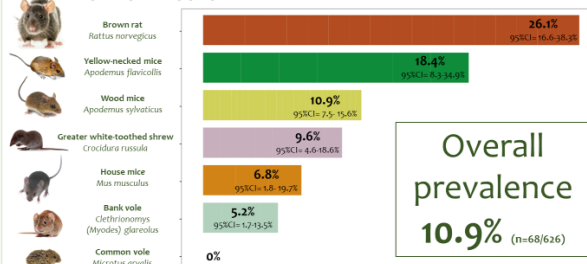
The spatial distribution of animals analyzed in the two parks



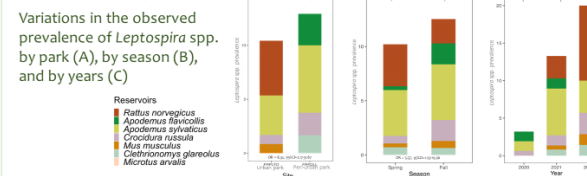
Peri-urban park



### *Leptospira* spp. prevalence



### Statistical analysis



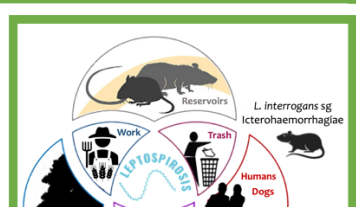
### *Leptospira* spp. genotyping profiles

Table 1. *L. interrogans* genotyped samples (n=14)

Sample	Species identification	MST1	MST2	MST3	Profile	SLST-1flr2008	SLST-1flr2008	SLST-1flr2008	SLST-1flr2008	SLST-1flr2008	Culture
Apodemus flavicollis (n=2)	<i>L. interrogans</i>	4	3	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Positive
Apodemus sylvaticus (n=2)	<i>L. interrogans</i>	-	-	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Positive
Apodemus sylvaticus (n=2)	<i>L. interrogans</i>	-	-	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Positive
Microtus arvalis (n=3)	<i>L. interrogans</i>	-	-	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Positive
Microtus arvalis (n=2)	<i>L. interrogans</i>	-	-	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Positive
Microtus arvalis (n=2)	<i>L. interrogans</i>	5	11	5	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Positive
Microtus arvalis (n=2)	<i>L. interrogans</i>	5	11	5	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Positive
Microtus arvalis (n=2)	<i>L. interrogans</i>	5	11	5	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Positive
Microtus arvalis (n=2)	<i>L. interrogans</i>	5	11	5	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Positive

Table 2. *L. kirschneri* genotyped samples (n=3)

Sample	Species identification	MST1	MST2	MST3	Profile	SLST-1flr2008	SLST-1flr2008	SLST-1flr2008	SLST-1flr2008	SLST-1flr2008	Culture
Dicrostonyx glaberrimus (n=2)	<i>L. kirschneri</i>	4	3	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Positive
Dicrostonyx glaberrimus (n=1)	<i>L. kirschneri</i>	4	3	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Complete	Positive



## Conclusions

1. Significant carriage of *Leptospira* spp. in small mammals in Lyon city, with strong variations observed between animal species.
2. *Leptospira* spp. prevalence seemed to be higher in the peri-urban park, in autumn and increases over time.
3. Important public health relevance of rats and urban adapter rodents as reservoirs of *L. interrogans*; and shrews as reservoirs of *L. kirschneri*.
4. Further investigations with an increased number of parks are needed to better understand the impact of urbanization, and the evolution of the *Leptospira* spp. prevalence over time.

## References

1. Ko AI, Goarant C, Picardeau M. *Leptospira*: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. Nat Rev Microbiol. 2009 Oct;7(10):736-47.
2. Costa F, Hagan JE, Calcagno J, Kane M, Torgerson P, Martinez-Silveira MS, et al. Global morbidity and mortality of Leptospirosis: a systematic review. PLoS Negl Trop Dis. 2015;9(6):e0100398.
3. Boey K, Shikawa K, Tajvee S. *Leptospira* infection in rats: a literature review of global prevalence and distribution. PLoS Negl Trop Dis. 2019 Aug;13(8):e0007499.
4. Pradel J, Bouilloud M, Lohseu A, Piry S, Galan M, Artige E, et al. Small terrestrial mammals (*Rodentia* and *Sorkomorpha*) along a gradient of forest anthropisation (reserves, managed forests, urban parks) in France. Biodiversity Data Journal. 2022 Dec 30;10:e95214.
5. Ayrat F, Artois J, Zilber AL, Widen F, Pounder KC, Aubert D, et al. The relationship between socioeconomic indices and potentially zoonotic pathogens carried by wild Norway rats: a survey in Rhône, France (2010-2012). Epidemiol Infect. 2015 Feb;143(3):386-99.

## Acknowledgements



Fig. 27. Poster présenté par M. Garcia-Lopez à la conférence ISWALVD tenue à Lyon en juin 2023.

## 2. Zoom sur l'Orthohantavirus Seoul

Une étude approfondie a été menée sur l'Orthohantavirus Seoul (SEOV) détecté chez les rats bruns sauvages *Rattus norvegicus* du parc urbain de la Tête d'Or à Lyon. Elle a permis d'analyser la diversité génétique de ce virus (2020-2022) et son évolution depuis sa détection en 2013 dans ce même parc.

**Evolution and Genetic Characterization of Seoul Virus in Wild Rats *Rattus Norvegicus* from an urban park in Lyon, France 2020-2022** Hussein Alburkat, Teemu Smura, Marie Bouilloud, Julien Pradel, Gwendoline Anfray, Karine Berthier, Lara Dutra, Anne Loiseau, Thanakorn Niamsap, Viktor Olander, Diana Sepulveda, Vinaya Venkat, Nathalie Charbonnel, Guillaume Castel, Tarja Sironen. **Soumis à Plos NTD.**

Preprint disponible sur Biorxiv :

<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2023.04.12.536564v1.full>

Le virus Seoul (SEOV) est un orthohantavirus qui a pour réservoirs spécifiques les rats, et qui peut provoquer le syndrome fébrile hémorragique avec insuffisance rénale (HFRS) chez l'humain. Son incidence est probablement sous-estimée (Clement, Leduc, et al., 2019a; 2019b). Nous avons effectué une caractérisation sérologique et moléculaire complète de SEOV dans la population de *Rattus norvegicus* du parc urbain lyonnais de la Tête d'Or (FRPLTO) entre 2020 et 2022.

Nous avons confirmé la circulation de SEOV chez les rats du parc (séroprévalence de 17,2 %). Le nombre de rats séropositifs varie selon la ligne de piégeage à l'intérieur du parc et la période (**Tableau 3**).

**Tableau 3.** Nombre de rats capturés par ligne de piégeage en fonction des périodes et au total. Les chiffres entre parenthèses indiquent ceux séropositifs.

Trap line	Autumn 2020	Spring 2021	Autumn 2021	Spring 2022	Total
ASI	0	0	4 (0)	12 (0)	16 (0)
CT	0	2 (1)	11 (2)	19 (4)	32 (7)
CYN	0	7 (2)	2 (0)	3 (1)	12 (3)
JDP	1 (0)	1 (1)	1 (0)	1 (0)	4 (1)
LEM	4 (0)	0	0	0	4 (0)
MAM	7 (0)	4 (3)	4 (0)	0	15 (3)
PRI	0	0	1 (0)	0	1 (0)
SBP	0	1 (1)	2 (0)	0	3 (1)

Les souches de SEOV détectées présentaient une forte similarité génétique avec la souche précédemment décrite en 2013 dans cette région. Nous avons constaté une faible structuration génétique des populations de rats sauvages dans la ville de Lyon. Les rats piégés dans le bâtiment "forêt asiatique" du parc zoologique (Ligne de piégeage ASI), une zone nouvellement construite en 2021 abritant une grande diversité de mammifères et d'oiseaux, étaient tous séronégatifs et ont montré des niveaux élevés de différenciation génétique par rapport aux rats piégés dans d'autres parties du parc ou de la ville de Lyon. Cela pourrait suggérer une introduction récente des rats et/ou un fort effet fondateur associé à la création de cette zone. Il est important à l'avenir de porter une attention particulière à ce site, d'étudier l'évolution des populations de rats et la séroprévalence du SEOV chez les rats et les singes captifs hébergés (*Nomascus leucogenys*).

Cette étude confirme la circulation de SEOV dans la ville de Lyon, dans un parc où les opportunités de transmission de SEOV aux humains sont nombreuses. Compte tenu du fort flux génétique entre les populations de rats dans le parc et le reste de la ville, nous recommandons de mener une surveillance de SEOV à l'échelle de la ville.

### 3. Zoom sur l'Orthohantavirus Puumala

Une étude approfondie a été menée sur la circulation de l'orthohantavirus Puumala (PUUV) dans son réservoir sauvage, le campagnol roussâtre *Clethrionomys* (syn. *Myodes*) *glareolus*, lors de l'épidémie de néphropathie épidémique détectée en 2021 dans le Jura. Cette analyse a permis de décrire la diversité génétique de ce virus (2020-2022) et son évolution depuis les premières études en 2005 dans cette zone géographique.

**Puumala orthohantavirus circulation in its wild reservoir, the bank vole, during the 2021 outbreak of hemorrhagic fever with renal syndrome in Jura, France.** Guillaume Castel, Hussein Alburkat, Caroline Tatard, Lara Dutra, Mathilde Criado, **Marie Bouilloud**, Julien Pradel, Tarja Sironen, Nathalie Charbonnel. Sous presse dans *Infectious Diseases Now*.

Disponible dans **Infectious Diseases Now** : <https://doi.org/10.1016/j.idnow.2023.104767>

**Objectif:** Une épidémie importante et sans précédent d'une forme atténuée du syndrome fébrile hémorragique avec insuffisance rénale, appelée néphropathie épidémique (NE) et causée par le virus Puumala (PUUV), a eu lieu en 2021 dans les montagnes du Jura méridional (France),



*entraînant de nombreuses hospitalisations (Brun et al., 2023). L'objectif de cette étude est d'analyser la circulation du PUUV dans son réservoir animal au moment de cette épidémie.*

**Méthodes :** *Nous avons étudié conjointement l'abondance relative des campagnols roussâtres, la composition de la communauté de petits mammifères et la circulation du PUUV chez les campagnols roussâtres (séroprévalence et diversité génétique) dans la zone épidémique NE du Jura, entre 2020 et 2022. Nous avons séquencé le fragment S de PUUV pour les campagnols roussâtres séropositifs, et nous avons comparé ces séquences avec celles obtenues dans ces mêmes sites depuis 2005.*

**Résultats :** *Les résultats des piégeages ont montré une abondance relative plus élevée des campagnols roussâtres en 2021 par rapport à 2020 et 2022. Des niveaux extrêmement élevés de séroprévalence du PUUV chez les campagnols roussâtres ont été observés au moment de l'épidémie humaine de NE, avec des animaux séropositifs piégés dans presque toutes les lignes de piégeage dès le printemps 2021. Cette forte séroprévalence était corrélée au pic de densité de son hôte *Clethrionomys* (syn. *Myodes*) *glareolus*. Cela correspond à une relation positive observée dans d'autres études entre l'augmentation de l'abondance des campagnols roussâtres et la séroprévalence du PUUV. Ceci s'explique par le fait qu'un plus grand nombre d'hôtes entraîne une augmentation de la transmission de PUUV dans la population.*

*De plus nous avons enregistré une plus grande séroprévalence à FRFMIG, la zone la plus exploitée (entre 65,6 % et 85,3 %, **Tableau 4**) par rapport à la réserve FRFGLA (entre 10,4% et 24,2%, **Tableau 4**). Cependant l'effet dilution, c'est-à-dire une relation négative entre biodiversité des petits mammifères et augmentation de la prévalence (F. Keesing et al., 2006), n'a pas été montré dans cette étude. La composition et la diversité de petits mammifères étaient similaires entre les deux sites. Une approche plus approfondie de cette hypothèse nécessiterait maintenant l'analyse de l'abondance absolue des espèces de rongeurs, ainsi que l'étude de plus grands mammifères, en particulier les prédateurs, qui pourraient également influencer la transmission du PUUV entre les campagnols roussâtres (Khalil et al., 2016).*

**Tableau 4.** Nombre d'individus séropositifs à PUUV sur l'ensemble des campagnols roussâtres testés à l'aide des techniques d'IFA. La séroprévalence est indiquée pour les deux sites où PUUV circule (FRFGLA et FRFMIG) et les périodes d'échantillonnage.

	FRFMIG	FRFMIG	FRFMIG	FRFGLA	FRFMIG	FRFGLA	FRFMIG
	Spring 2020	Autumn 2020	Spring 2021	Spring 2021	Autumn 2021	Autumn 2021	Spring 2022
IFA PUUV	0/25	1/36	29/34	2/19	21/32	8/33	2/12
Séroprévalence	0%	2.7%	85.3%	10.5%	65.6%	24.2%	16.6%

Les analyses génétiques du PUUV (segment S) prélevé en 2021 sur deux sites d'échantillonnage ont révélé un regroupement important de ces souches dans le clade "Jura". Aucune variation génétique significative n'a été détectée par rapport à ce qui était déjà connu dans la région du Jura. Nous avons trouvé des différences génétiques marquées entre les souches circulant sur ces deux sites FRFMIG et FRFGLA en 2021. Ces différences spatiales (bien que les sites soient géographiquement proches) étaient plus importantes que les différences temporelles détectées entre 2005 et 2021 à FRFMIG. Ces différences génétiques devraient être explorées pour tous les segments de PUUV. Ceci permettrait d'étudier les impacts potentiels des variations génétiques sur les caractéristiques virales qui pourraient influencer l'épidémiologie de la NE (transmission entre réservoirs ou vers les humains). À cet égard, la disponibilité de génomes viraux complets, provenant de patients humains et de campagnols roussâtres, est essentielle.

Les résultats de cette étude plaident en faveur d'un suivi renforcé de la circulation du PUUV dans les populations des réservoirs établies en zones d'endémie de la NE. Cela permettrait de mieux informer et sensibiliser au risque zoonotique, et de mettre en œuvre des stratégies de prévention en collaboration avec les médecins locaux et professionnels.

### **Conclusion :**

Nous avons identifié une grande diversité de pathogènes de caractéristiques différentes dans les communautés de petits mammifères, confirmant leur rôle crucial en tant que réservoirs. Certains de ces pathogènes présentent des dangers zoonotiques majeurs en raison de leur prévalence élevée ou de leur virulence chez l'humain, ce qui peut entraîner des conséquences sanitaires, sociales et économiques significatives. En effet, une importante épidémie de néphropathie épidémique causée par l'*Orthohantavirus Puumala* a été signalée, liée à des

prévalences exceptionnellement élevées chez les campagnols roussâtres à cette période. Nous ignorons si d'autres pathogènes détectés dans cette étude ont pu causer des maladies, car leur diagnostic est souvent minimisé, sauf dans les cas cliniques graves. Nous préconisons une surveillance continue de ces pathogènes et de leurs hôtes afin de sensibiliser davantage et de prévenir les risques zoonotiques, notamment en augmentant les échanges avec le milieu médical lorsqu'une forte prévalence de pathogènes est observée chez les petits mammifères.

Les études épidémiologiques ont révélé que le nombre et la prévalence de pathogènes variaient en fonction des espèces hôtes, des groupes fonctionnels, du sexe de l'hôte, des périodes et des localités. Les espèces adaptatrices urbaines présentaient une plus grande capacité de réservoir en milieu urbain. La compétence de l'hôte variait entre les espèces hôtes et les pathogènes, indiquant des relations hôtes-pathogènes diverses. Les périodes les plus propices aux pathogènes correspondaient aux pics de pullulation des espèces les plus abondantes. Les différences entre localités et périodes suggèrent un lien potentiel avec les conditions environnementales et anthropiques, ainsi que les variations spatiotemporelles des hôtes plus ou moins compétents. Pour mieux comprendre ces différences, il est nécessaire d'étudier en détail la relation entre la biodiversité des petits mammifères hôtes et la prévalence des pathogènes.

## VI. Conclusions du chapitre 1

Ce chapitre visait à présenter les méthodes de caractérisation des communautés multi-hôtes – multi-pathogènes et de leur environnement, puis à mettre en évidence les limites de ces méthodes qu'il est important de garder à l'esprit dans l'interprétation des résultats qui seront présentés dans les chapitres suivants.

Ce travail repose sur une approche holistique et met en exergue l'importance de l'écologie de la santé et de l'éco-épidémiologie en amont de la surveillance des zoonoses. Une meilleure connaissance de l'écologie de la faune sauvage et une détection plus efficace des pathogènes chez les hôtes, dont les animaux domestiques et les humains, sont des prérequis indispensables pour améliorer la surveillance et la prévention du risque zoonotique.

Une collaboration renforcée et une communication transdisciplinaire, dans le cadre de l'approche "One Health", permettront également de contribuer à une meilleure compréhension de la transmission des pathogènes aux populations humaines, et par conséquent à une meilleure prévention des risques. C'est pourquoi les données éco-épidémiologiques acquises durant cette thèse ont fait l'objet de rapports et communications à destination des gestionnaires des sites suivis, et ont été le support d'un 'focus group' pour les ateliers portant sur les stratégies de prévention des zoonoses associées aux rongeurs en novembre 2022.

## Chapitre 2. Combinaison d'analyses théoriques et empiriques pour comprendre la relation entre la biodiversité des communautés de petits mammifères et la prévalence des pathogènes

### I. Contexte

Dans le chapitre précédent, nous avons mis en avant l'importance d'adopter une approche holistique pour étudier les pathogènes, en incluant l'ensemble des espèces hôtes d'une communauté ainsi que leur environnement. Ceci vise à améliorer la surveillance et la prévention des risques zoonotiques. Dans cette continuité, l'objectif de ce chapitre est d'approfondir notre compréhension de la relation entre la prévalence des pathogènes et la biodiversité des communautés de petits mammifères. En explorant les mécanismes en œuvre, dans divers contextes épidémiologiques, nous pouvons envisager d'apporter des éléments de connaissance permettant de coupler une meilleure gestion de la biodiversité à une réduction des dangers zoonotiques potentiels (Hopkins et al., 2021).

Ces dernières années, les études sur les maladies infectieuses se sont orientés vers des sujets qui examinent les liens entre biodiversité et circulation des agents pathogènes, ainsi que les causes des maladies infectieuses émergentes, plutôt que de se concentrer sur les études épidémiologiques des pathogènes devenus endémiques (Brandell et al., 2021). Cette orientation est d'une importance capitale alors que le nombre de maladies émergentes croît de concert avec l'ampleur croissante de la perte de biodiversité causée par des effets anthropiques (R. E. Baker et al., 2021; Jones et al., 2008; K. F. Smith et al., 2014). Les méta-analyses combinant les études sur les liens biodiversité-pathogènes ont mis en évidence que la perte de biodiversité peut influencer le danger zoonotique (Civitello et al., 2015; Gibb et al., 2020; Keesing et al., 2010). Cependant ces études sont parfois remises en question, avec des observations empiriques montrant des relations biodiversité -pathogènes dépendant du contexte (Halliday et al., 2020; Rohr et al., 2020). Cependant, cette variabilité des relations biodiversité-pathogènes pourrait engendrer des conséquences significatives et potentiellement contre-productives lors de l'application de stratégies de gestion de la biodiversité visant à réduire la prévalence des pathogènes. Il est crucial à présent d'examiner la contribution des mécanismes sous-jacents à cette relation prévalence/biodiversité dans une multitude de contextes.

Ainsi, il est impératif de diversifier les études empiriques en incluant d'autres pathogènes peu ou pas étudiés jusqu'à présent, et en prenant en compte une variété de contextes écologiques (Rohr et al., 2020). Mais aussi, il est nécessaire de combiner des approches empiriques et théoriques, car si les premières visent à décrire des patrons, ces dernières permettent de tester l'influence relative de différents mécanismes écologiques et ainsi de démêler les interactions complexes entre hôtes-pathogènes au sein des communautés d'hôtes (Roche et al., 2012). Les études théoriques basées sur des modèles épidémiologiques peuvent aider à répondre à ces objectifs, même si elles simplifient souvent la réalité (Keeling & Rohani, 2008; Sofonea et al., 2022).

Au cours de cette thèse, nous avons entrepris deux études distinctes. Dans un premier volet, une étude empirique a été menée pour évaluer l'impact de la biodiversité des petits mammifères sur la prévalence de plusieurs pathogènes, le long d'un gradient d'anthropisation, afin d'avoir un large panel d'hôtes-pathogènes. Dans un second volet, nous avons adopté une approche théorique basée sur un modèle épidémiologique multi-espèces. Nous avons utilisé les données empiriques obtenues durant cette thèse concernant les communautés de petits mammifères et la circulation de l'Orthohantavirus Seoul (SEOV) en milieu urbain. Nous avons examiné si des stratégies de gestion, telles que la dératisation, avaient un impact sur la relation entre biodiversité et prévalence en SEOV, afin d'identifier les stratégies gagnant - gagnant pour la biodiversité et le danger zoonotique associé à SEOV.

## II. Etude empirique

**Title Complex interplay of environment, small mammal biodiversity, host competence, and prevalence of multiple pathogens.**

Bouilloud M., Galan M., Bordes A., Tatar C., Pradel J., Loiseau A., Alburkat H., Dutra L., Sironen T., Sluydts V., Roche B., Charbonnel N. En préparation pour Nature Communications.

### A. Abstract

Zoonotic diseases threaten global health, a risk further intensified by human-induced biodiversity changes. The intricate biodiversity-zoonoses links include dilution, amplification, or neutral effects. Recent meta-analyses spotlight a pattern where the abundance of competent hosts increases when biodiversity is low. This emphasizes the importance of assessing host

communities in terms of competence and abundance to gain a better understanding of pathogen prevalence in response to various environmental factors.

In our study, we used molecular and serological methods to detect zoonotic pathogens from small mammals across varying forest anthropization. We examined diversity's interplay with prevalence of multiple pathogens. Additionally, we assessed the link between biodiversity and abundance of most competent host. Through structural equation modeling, we unraveled the intricate interactions between environment, host biodiversity, abundance of competent host, and pathogens' prevalence.

Biodiversity shaped pathogen presence diversely: Orthopoxvirus and one *Mycoplasma haemomuris* strain displayed dilution effects, while another *Mycoplasma haemomuris* strain and *Mycoplasma coccoides* showed amplification effects. We showed that these contrasted trends stem from shifts in competent host abundance. The environment directly impacted pathogen presence and indirectly influenced abundance of competent hosts, affecting the relationship between host community diversity and pathogen prevalence.

**Keywords:** Competence, Dilution effect, Host community, Pathogens, Small mammals, Zoonoses



## B. Introduction

The acceleration of infectious disease emergence (Baker et al., 2021) and biodiversity decline due to anthropogenic changes (Cardinale et al., 2012) suggest a clear connection between the environment, host communities structure, and pathogens circulation (Halliday et al., 2021). Multiple meta-analyses emphasize that host diversity reduces pathogen prevalence in various host-pathogen systems (Civitello et al., 2015; Magnusson et al., 2020), contributing to a dilution effect that mitigates zoonotic transmission (Keesing et al., 2006). Consequently, studies suggest that managing biodiversity, including species control (Miguel et al., 2020) and conservation measures (Hopkins et al., 2022) may establish a favorable balance between biodiversity and public health (Hopkins et al., 2021).

However, these meta-analyses face criticism for non-uniform comparisons across studies, introducing biases and potential misinterpretation related to factors like scale, methods, metrics, and publication (Halliday & Rohr, 2019; Randolph & Dobson, 2012; Salkeld et al., 2013a; Wood & Lafferty, 2013). Furthermore, other studies have shown that the diversity-pathogen prevalence relationship can be negative, null, positive (call amplification effect, Keesing et al., 2006)(Wood et al., 2014), and definitely context-dependent (Halliday & Rohr, 2019; Liu et al., 2020). Implementing biodiversity management methods could potentially lead to unintended and counterproductive outcomes in specific systems where the dilution effect is not applicable. Continuing empirical studies while considering the environmental context and the full range of pathogens circulating in host communities is essential.

The mechanisms behind the dilution effect are well-established (Keesing et al., 2006; Keesing & Ostfeld, 2021a; Rohr et al., 2020). Firstly, hosts within a community must vary in their competence for the pathogen studied, *i.e.*, their ability to replicate and transmit this pathogen (Huang et al., 2016). Secondly, biodiversity must regulate pathogen transmission either by: i) reducing the frequency of encounters, thereby reducing the rate of transmission within competent host species, or by ii) regulating the abundance of competent hosts through interactions between host species such as competition and predation (Keesing et al., 2006; Keesing et al., 2010; Keesing & Ostfeld, 2021). Recent meta-analyses suggest that the dilution effect may frequently occur when a loss of biodiversity, often associated with anthropogenic pressures, predictably alters the composition of the host community. This shift leads to the most competent species becoming the most abundant (and the less abundant species

disappearing first) in low-biodiversity environments (Gibb et al., 2020; Halliday et al., 2020c). Typically, the species most abundant and resilient to anthropogenic disturbances are also the most competent due to their fast-paced life strategy. This strategy allows them to achieve rapid growth rates and enhanced colonization abilities, albeit at the expense of reduced immune defense (Han et al., 2015; Plourde et al., 2017; Rohr et al., 2020). To evaluate these mechanisms in nature, examining host abundance according to their degree of competence is crucial (Keesing & Ostfeld, 2021b).

Studying biodiversity/pathogens interactions, as well as the conditions under which the dilution effect prevails, while considering environmental changes is crucial (Halliday et al., 2021). Indeed numerous factors have the ability to directly impact the presence of pathogens, affecting their survival and spread in the environment (Engering et al., 2013) or among vectors (Mora et al., 2022), and even altering their replication rates (Roberts & Heesterbeek, 2018). The environment can also indirectly influence the presence of pathogens by reshaping host community structure, thereby favoring competent species (Salkeld et al., 2013). Moreover, variations in species abundance through time, driven by natural cycles linked to resource availability and predator-prey interactions (Altizer et al., 2006), along with population demographic structure (Henttonen, 2022), individual behaviour (Silk & Fefferman, 2021) and diseases (Schmid et al., 2022), can collectively affect host competence (Martin et al., 2016; Wolinska & King, 2009). Research on biodiversity/pathogens interactions must hence shed light on the extent to which these relationships are dependent on the environmental context, and whether they are always predictable (Halliday et al., 2021; Rohr et al., 2020).

Small mammal species represent a highly diverse taxonomic group, resulting in a wide array of pathogens with variations in transmission modes (vector vs. direct), host specificity (specialist vs. generalist), and consequently, differences in host competence (Olival et al., 2017). The characteristics of these pathogens and the competence of the hosts can significantly impact how host community biodiversity influences their circulation (Keesing et al., 2006; Rudolf & Antonovics, 2005; Su et al., 2022). Empirical studies reveal diverse relationships between biodiversity and pathogens (e.g. Clay et al., 2009; Khalil et al., 2014, 2016; Tersago et al., 2008). Some of these studies show the potential simultaneous influence of several mechanisms in shaping these patterns (Luis et al., 2018a). In other cases, these studies have not always shown a dilution effect, whether it concerns the reduction of competent hosts (Dearing et al., 2015;

Dizney & Ruedas, 2009) or the decrease in intraspecific interaction frequencies (Rubio et al., 2017).

Small mammal species have colonized various habitats, ranging from natural environments to urban areas (Pradel et al., 2022). Small mammal species community structure evolves over time due to various cycles (Andreassen et al., 2020; Bogdziewicz et al., 2016), geoclimatic variations (Auffray et al., 2009) , or anthropogenic influences (Fischer et al., 2015). These temporal and spatial fluctuations offer an unique opportunity to explore direct and indirect environmental effects on pathogen presence in these communities. Furthermore, these species often act as reservoirs, with one species frequently hosting multiple pathogens, enabling cross-pathogen comparisons within multi-host communities (Han et al., 2015; Mendoza et al., 2019). Surprisingly, there have been relatively few studies that directly compare biodiversity-prevalence patterns among different pathogens within the same ecological context. Conducting such empirical investigations is crucial for evaluating whether the relationship between biodiversity and prevalence holds consistently across various pathogens, while mitigating potential methodological biases (Halliday & Rohr, 2019).

Here, we explored the intricate interactions between small mammal community diversity, host competence, and pathogen prevalence along an environmental gradient of forest anthropization. We sought to determine whether a dilution effect could occur in these communities and whether the patterns observed were environmental and/or pathogen-dependent.

We first tested the relationships between small mammal species diversity and prevalence for different pathogens in different forested areas with contrasted levels of anthropization. Next, we assessed the variations in small mammal species competence and investigated how the relative abundance of the most competent species changed with diversity, for each pathogen. Lastly, we explored potential indirect effects of the environmental gradient on pathogens' prevalence, considering possible changes in host species diversity and the relative abundance of the most competent hosts.

## C. Material and Methods

### *Small mammal sampling*

We surveyed small mammal communities in six sampling sites in Eastern France that represented different levels of forest anthropization (**Fig. S1**: two integral biological reserves (FRFGLA: La Glaciere, FRFGRI: Griffes du Diable); two managed forests (FRFCOR: Cormaranche en Bugey; FRFMIG: Mignovillard); two urban parks (FRPLTO: Lyon, Parc de la Tête d'Or; FRPDLL: Marcy l'Etoile, Domaine Lacroix Laval)).

Captures of small terrestrial mammals were performed during the pre-breeding (spring) and post-breeding (autumn) seasons, from spring 2020 to spring 2022. Each year-season combination was considered as a 'period' in further analyses. Details are provided in Pradel et al. (2022). Trapping success was estimated for each site and period on the basis of the three first nights of trapping. It enabled to assess the relative abundance of each small mammal species captured. It was determined using the formula  $\ln(1 - (\text{number of individuals trapped} / (\text{number of traps} \times \text{number of nights}))) \times (-100)$  for each species, site, and period, following the approach described in Aplin et al. (2003).

All captured animals, except those belonging to protected species that were released and dead animals found in traps, in a limit of 35 individuals per species, site and period, were euthanized by cervical dislocation after sedation with isoflurane (Mills et al., 1995) and dissected as described in Pradel et al. (2022). Spleen and kidneys were stored in 96° ethanol for bacteria detection. Heart was preserved in PBS at -20°C for serological analyses. Detailed morphological information and sexual characteristics were recorded to determine small mammals' species, sex and functional group (immature and juvenile versus adult, Henttonen et al., 2022). *Apodemus sp.*, *Microtus sp.*, as well as insectivores identifications were confirmed using molecular methods (details in Pradel et al. 2022).

### *Pathogens' detection*

#### *Detection of pathogenic bacteria*

We used kidney samples and real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) to detect pathogenic *Leptospira sp.* DNA extraction was performed from the cortico-medullary junction piece of kidney tissue using BioBasic kits (EZ-10 96 Well Plate genomic DNA) and following the

manufacturer's instructions. DNA was eluted in a final volume of 150  $\mu$ L. RT-PCR was performed according to the protocol described in Dobigny et al. (2015). It targets a partial region of the gene encoding 32-kDa lipoprotein (lipL32), which is specific of pathogenic *Leptospira* (Stoddard et al., 2009). The mixture comprising 2  $\mu$ L of DNA, 5  $\mu$ L of TaqMan probe, 10  $\mu$ L for each primer and 5U/ $\mu$ L of FastStart Taq (Roche) was added to 384-well plates and RT-PCR reactions were carried out in the LightCycler LC480 (Roche Diagnostics). Samples were replicated, and positive and negative controls were included on each plate. Samples with a cycle threshold ( $C_T$ ) value equal to or lower than 40 were considered positive.

Other potential pathogenic bacteria were detected from spleen samples as this organ is involved in blood filtering and participates in immunity. We used the DNeasy 96 Blood and Tissue kit (Qiagen) following manufacturer's instructions to extract splenic DNA, and we amplified the V4 region of the 16S rRNA gene according to Galan et al. (2016). We replicated each DNA extraction and used negative and positive controls at every steps (extraction, indexing, amplification) to control for contaminations. Samples were then subjected to high-throughput sequencing using Illumina MiSeq technology (2 x 251 bp). Read pairs R1 (forward) and R2 (reverse) were truncated to lengths of 180 bp and 120 bp respectively and merged to ensure sequence quality ( $Q>30$ ). Sequences were then dereplicated and chimeras were removed using the *removeBimeraDenovo* function. Amplification and sequencing errors were detected using the dada2 pipeline (Qiime2\_2021.11) (Bolyen et al., 2019; Callahan et al., 2016). Each amplicon sequence variant (ASV) obtained was then assigned to a reference sequence using BLASTN+ (Camacho et al., 2009) with the most recent SILVA database and quality-correction (rRNA 138.1, <http://www.arb175silva.de/projects/ssu-ref-nr/>) using the FROGS workflow (Escudié et al., 2018). Sequencing details and raw reads are available in the Zenodo repository.

Data were filtered following the approach proposed by Galan et al. (2016) using R v4.2.2 (R Core Team, 2022). The applied filters were as follows: i) Removal of ASVs with sequence counts below the maximum counts observed for the same ASVs found in negative controls for DNA extraction, PCR, indexing, or sequencing. ii) Removal of ASVs with sequence counts below the maximum counts of an "alien" bacterium, *i.e.*, one that cannot be found in small mammals. Detection of such an ASV indicates incorrect assignment during sequencing. iii) Only ASVs

present in two replicates from an individual were retained, and their sequence counts were summed.

We identified pathogenic taxa using the Gideon database (<https://www.gideononline.com/>) and literature (In revision, Abbate et al.). We included only bacteria known to be potentially pathogenic to humans or small mammals in our analysis, excluding "opportunistic" pathogens for rodents and potential contaminants.

Due to the limited resolution of 16S sequencing, we worked at the genus level for most taxa. For *Mycoplasma*, species were identified. We retained the Amplicon Sequence Variants (ASVs) corresponding to *Mycoplasma* (syn. *Haemobartonella*) *haemomuris* and *coccoides* on Blast comparisons (**Fig. S2**), as they are known to be pathogens of small mammals and to replicate in blood and spleen tissues.

#### Detection of antibodies anti-Orthohantaviruses and anti-Orthopoxviruses

We used immunofluorescence assays (IFA) to detect antibodies anti-Orthohantaviruses and anti-Orthopoxviruses from heart blood samples. We applied the protocol established by Kallio-Kokko et al. (2006). We used slides coated with Vero E6 cells infected with i) Puumala virus (PUUV) or Dobrava virus for Orthohantaviruses and ii) cowpox virus for Orthopoxviruses (POXV) detection. Fluorescent antibodies were added, emitting light upon binding to the anti-virus antibodies (IgG), thereby revealing their presence under fluorescence microscopy, and consequently, determining seropositivity.

#### Statistical analyses

All analyses described below were performed using R v4.2.2 (R Core Team, 2022).

#### Characterization of sites and small mammal communities

To account for environmental factors, we incorporated biogeographical scores based on climate data, coordinates, and land use information for each sampling location. Additionally, we used anthropization scores to assess the combined impact of fragmentation, land use associated with anthropization, and exploitation level. These scores were obtained through Principal Component Analysis (PCA) using the FactoMineR package (Lê et al., 2008) (Supplementary method, **Fig.S1**).

Small mammal diversity was described using species richness and Shannon index, which were generated with the *vegan* package (Oksanen et al., 2020) for each site and period. The composition of small mammal communities was assessed using a Bray-Curtis dissimilarity matrix subsequently ordered through Principal Coordinate Analysis (PCoA). The score representing the greatest variance on the first axis for each site and period was retained to provide an index of small mammal community composition. Due to the significant Pearson correlation between the various metrics, we will present only the Shannon index (**Sup. Table 1,3 and 4, Fig.S3**).

In further statistical analyses, host species with fewer than 10 individuals were excluded from our dataset. We specifically focused on pathogens that were present in all study sites, allowing us to analyze their relationship with biodiversity (**Fig. S4**). Pathogens were characterized based on their mode of transmission (Han et al., 2021) and host specificity (number of host species infected).

#### Relationships between pathogens' prevalence and small mammal biodiversity

We tested whether the relationship between pathogen prevalence and small mammal community biodiversity varied across the different pathogens selected. First, we evaluated the association between the distribution (presence/absence) of each pathogen and small mammal biodiversity metrics (Shannon index, species richness, and host species composition scores) using generalized linear models (GLMs) with a binomial distribution and a logit function. Individual characteristics (functional group and sex) and environmental variables (period and environmental scores for each site) were included in the models. Model selection was performed considering all possible combinations using the dredge function from the *MuMIn* package. Best model(s) were selected on the basis of the Akaike information criterion corrected for small sample size (AICc) (Johnson & Omland, 2004) and parsimony for models with  $\Delta AICc < 2$ . To address multicollinearity, we checked the variance inflation factor (VIF). We assessed the goodness-of-fit of each model by analysing the deviation and dispersion of model residuals from normality using the *DHARMa* package (Hartig, 2022).



### Relationships between the abundance of competent hosts and small mammal biodiversity

We first assessed host species' competence for each pathogen. We used the average relative prevalence of infected host species across each sampling site and period as a proxy of the level of host species' competence for a given pathogen. We applied an optimized generalized linear mixed model (GLMM) with pathogens presence/absence as the response variable, pathogen taxa, host species, environmental scores, sampling period and individual factors (functional group and sex) as fixed effects, and individual identity as a random effect. We examined the interaction between pathogen taxa and host species to detect variations in host species' competence for different pathogen taxa. In addition, we conducted post-hoc tests to decipher pairs of host species having different levels of competence for a given pathogen.

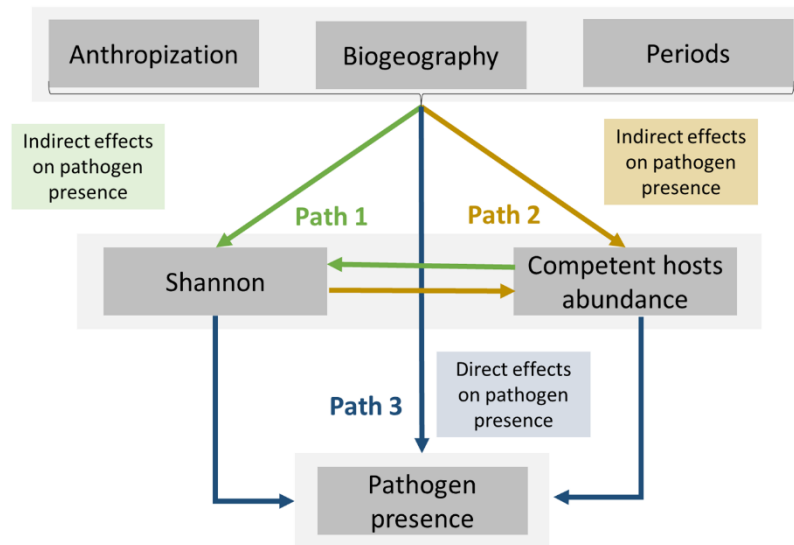
Additionally, we computed the mean relative prevalence of infected host species across different sites, sampling periods, and pathogens. We identified the most competent hosts based on a threshold of 10% for the specific pathogen's average relative prevalence.

Secondly, we examined the relationships between the abundance of the most competent hosts and host biodiversity. To do this, we assessed the relationship between the sum of the relative abundance weighted for each host considered as the most competent for a given pathogen, based on the Shannon index. We developed a separate model for each pathogen using Gaussian-distributed generalized linear models (GLM).

### Influence of the environment on the pathogen/small mammal biodiversity relationships

We employed a confirmatory path analysis using the *PiecewiseSEM* package (Lefcheck, 2016) to explore the interactions between the environment (gradient of forest anthropization), host community biodiversity, and the presence/absence of pathogens. The structural equation modelling (SEM) allowed us to examine the direct effects of the environment (as predictor variables) on pathogens' presence (response variable), as well as their indirect effects through host biodiversity changes (responses variables: Shannon diversity or relative abundance of most competent hosts), which in turn (biodiversity variables as predictor variables) influenced pathogens' presence (response variable) (**Fig.1**). The path analysis involved fitting three generalized linear models (GLMs) with different response distributions (binomial for presence/absence of pathogens, Gaussian for biodiversity metrics). To enhance the

performance of the SEM, we conducted individual tests for each path to identify the best-fitting GLMs. These optimal models were then integrated into the global SEM. The fit of this global SEM was assessed using Fisher's C-test ( $p > 0.05$ ).



**Fig.1.** "Path Figure," in which each arrow and color correspond to a path: blue signifies the direct effect on pathogen presence. For the indirect effect on pathogen presence, yellow represents the impact on the abundance of the most competent host, and green indicates the effect on the Shannon index.

#### D. Results

The sites exhibited variations based on their biogeography, encompassing geographic and climatic differences. Additionally, they varied along an anthropization gradient as anticipated (**Fig. S1**).

Across five periods and six sites, we sampled a total of 23 small mammal communities, comprising 16 species from different taxonomic groups (**Fig.S5**). Among these, 11 species belonged to the order *Rodentia* with *Glis glis*, *Sciurus vulgaris*, *Rattus norvegicus*, *Mus musculus*, *Apodemus sylvaticus*, and *Apodemus flavicollis*, *Clethrionomys* (syn. *Myodes*) *glareolus*, *Microtus arvalis*, *Microtus subterraneus*, and *Microtus agrestis*. Additionally, six insectivore species were identified, *Sorex araneus*, *Sorex coronatus*, *Neomys fodiens*, *Crocidura russula*, and *Crocidura leucodon*, and *Erinaceus europaeus*. Species composition differed based on anthropization level, while richness, abundance species, and diversity varied along the anthropization gradient and across sampling periods (**Fig.S6** and **S7**).

We detected fourteen pathogenic bacteria and two viruses. Their distribution varied across sites, with only seven of them present at all sites (**Fig. S4**). These included three strains of *Mycoplasma haemomuris* (noted *Mhae1*, *Mhae2*, *Mhae3*), one strain of *Mycoplasma coxoides*

(*Mcoc*), pathogenic species of the genus *Leptospira* (*Lept*) and *Bartonella* (*Bart*) and an orthopoxvirus (*POXV*). *Leptospira* and *POXV* are directly transmitted pathogens, while the others are vector-transmitted.

### Contrasted relationships between pathogens presence and small mammal biodiversity

We observed different relationships between pathogen presence and small mammal biodiversity, depending on the pathogen considered.

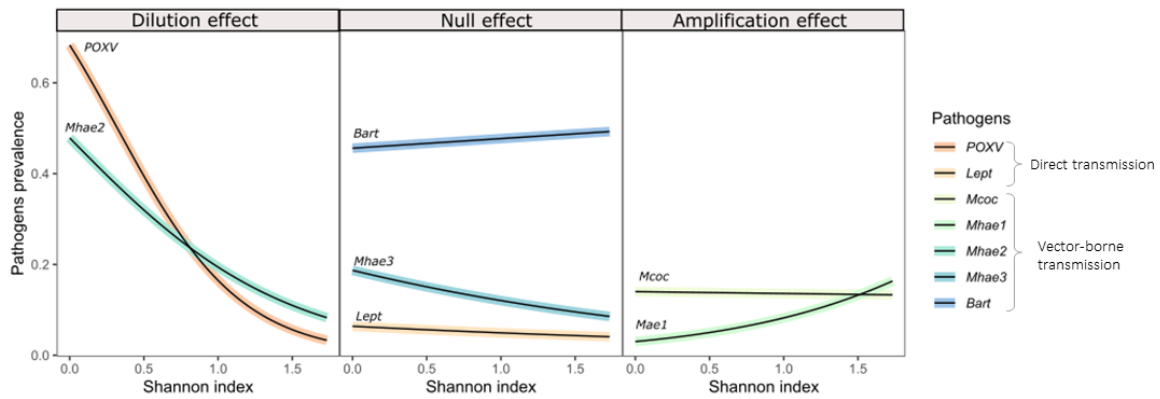


Fig.2. Relationship between pathogen prevalence and host diversity (Shannon index) for each pathogen, with colors indicating different pathogens.

We observed a negative correlation between the presence of anti-*POXV* antibodies (Wald test, Shannon:  $\beta = -2.87$ ,  $z$ value = 6.59,  $p$ -value =  $< 2e-16$ ) as well as *M. haemomuris* strain 2 (Wald test, Shannon:  $\beta = -1.24$ ,  $z$ value = -3.53,  $p$ -value =  $4.00e-04$ ) and small mammal diversity (Fig.2, Sup.Table2).

Conversely, a positive relationship was found between the presence of *M. haemomuris* strain 1 (Wald test, Shannon,  $\beta = 2.20$ ,  $z$ value = 4.45,  $p$ -value =  $8.47e-06$ ) and small mammal biodiversity (Fig.2, Sup. Table2). Despite Figure 2 displaying an almost null slope, when considering the confounding variables, we identified a significant positive trend for *M. coccoides* (Wald, Shannon test:  $\beta = 1.29$ ,  $z$ -value = 2.91,  $p$ -value =  $3.00 e-03$ ).

Lastly, the relationships between the presence of *M. haemomuris* strain 3 (Wald test, Shannon:  $\beta = -0.14$ ,  $z$ value = 0.35,  $p$ -value = 0.72), *Bartonella* (Wald test, Shannon:  $\beta = 0.40$ ,  $z$ value = 1.46,  $p$ -value = 0.14) or *Leptospira* (Wald test, Shannon:  $\beta = -0.79$ ,  $z$ value = -1.63,  $p$ -value = 0.10), and small mammal diversity were not significant (Fig.2).

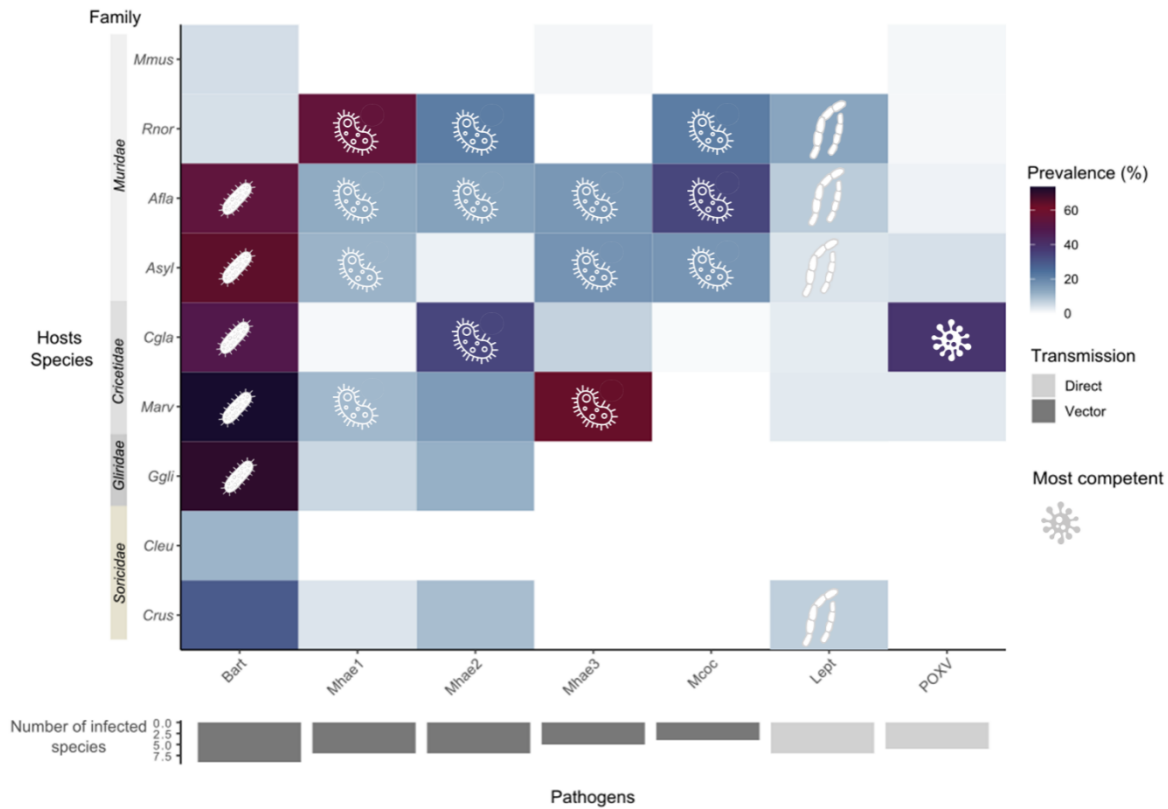
### *Variation in relationships between abundance of competent hosts and biodiversity*

The prevalence of a specific pathogen varied among different small mammal species (Chi-square of Wald Test,  $p\text{-value} = < 2.2e-16$ , **Fig. 3**). We identified the most competent hosts for each pathogen as those having an mean relative prevalence exceeding 10% (**Fig.3, Fig.S8**).

*Bartonella* infected all species with high prevalence and low variance of competence between each host. Based on mean relative prevalence, we considered five species as the most competent (**Fig.3**): *G. glis*, *M. arvalis*, *A. sylvaticus*, *A. flavicollis* and *C. glareolus*. However, its prevalence was significantly lower in *R. norvegicus* and *M. musculus* (prevalence  $< 5\%$ ).

Although POXV could infect all species, except for the *Crociodura* and *Glis* genera (**Fig. 3**), it demonstrated a distinct preference for infecting *C. glareolus* compared to other species, creating high variance in competence between each species, which exhibited a much higher prevalence (38.78%, other  $< 5\%$ ), thus creating a large variance in host competence (**Fig.S8**).

*Leptospira*, on the other hand, showed a low difference in hosts' competence, with preference for *R. norvegicus* as its primary host, with a mean relative prevalence of 36%. However, it was also present in other species, including *C. russula*, *A. flavicollis*, and *A. sylvaticus*. *Leptospira* had the potential to infect all species except *G. glis* and *C. leucodon*, with relatively low prevalence rates observed in each host species (**Fig. 3**).



**Fig 3.** Heatmap of pathogen prevalence among different host species of small mammals (represented by vertical bars indicating the families of these species). The color shades ranging from light blue to dark purple indicate prevalence values. The vertical bar chart represents the number of pathogens per host species of small mammals. The inverted horizontal bar chart indicates the number of host species where the pathogen is present. Light shades represent pathogens with direct transmission, while dark shades indicate pathogens with vector-dependent transmission. The symbols represent a virus or a bacterium and indicate the top 10% most competent hosts based on average relative prevalence.

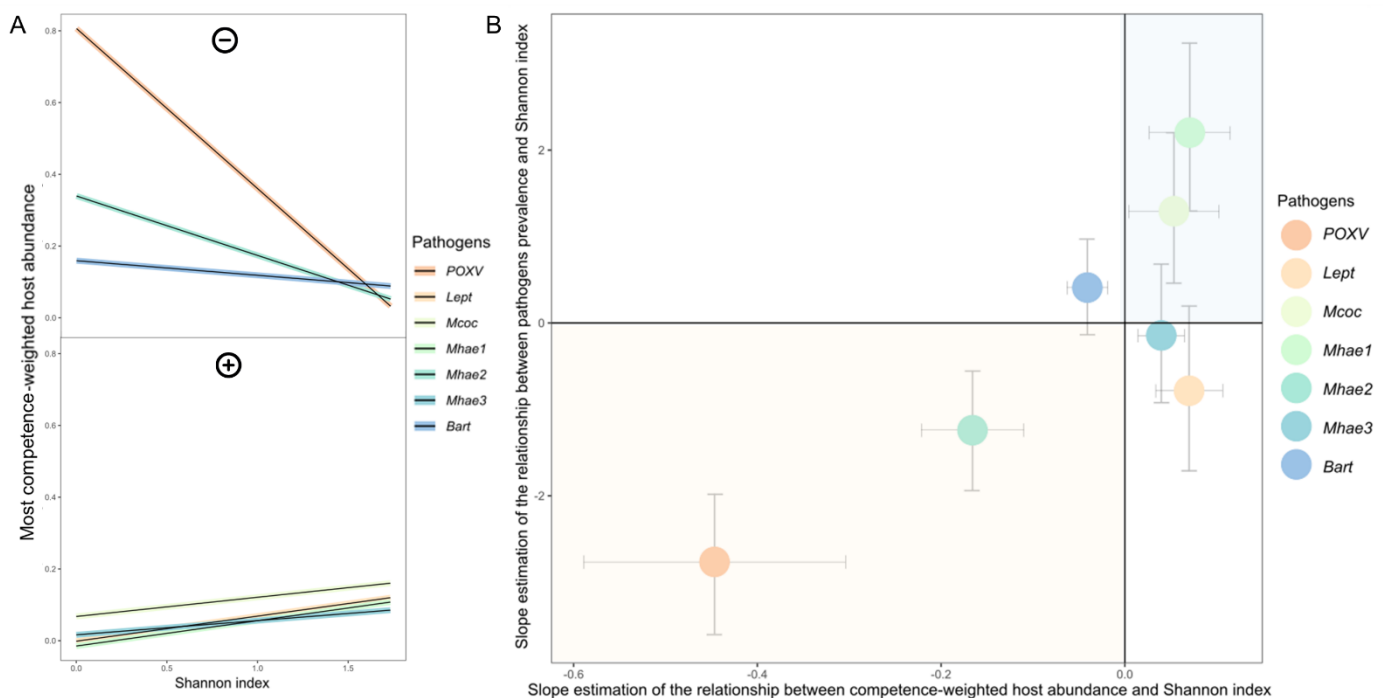
The distribution of *Mycoplasma* strains varied among small mammal species, with moderate variance in hosts' competence (**Fig.S8**). *Mhae1* was mainly detected in *R. norvegicus* (prevalence 13.79%), but it was also found in *A. flavicollis*, *A. sylvaticus*, *M. arvalis*, but not in *C. glareolus*, *C. leucodon* and *M. musculus*. For *Mhae2*, its preferred host was *C. glareolus*, with a mean relative prevalence of 31%. However, it was also detected in *R. norvegicus*, *G. glis*, *M. arvalis* and *A. flavicollis*. *Mhae2* did not infect *C. leucodon* and *M. musculus*. The strain *Mhae3* had a clear preference for *M. arvalis*, with a prevalence of 63.15%, followed by *A. flavicollis* and *A. sylvaticus*. Additionally, this pathogen had the potential to infect *M. musculus*, but the prevalence was low (1.23%).

Lastly, *Mcoc* showed a wide distribution among three preferred host species and did not infect other species: *A. flavicollis*, *R. norvegicus* and *A. sylvaticus*.

The relative abundance of the most competent hosts varied with small mammal diversity for all pathogens (Fig. 4A, Sup. Table 8). A decrease in the most competent hosts' abundance (weighted) with increasing Shannon community diversity was observed for POXV ( $\beta = -0.45$ ,  $t$ value =  $-6.14$ ,  $p$ -value =  $4.29e-06$ ) and Mhae2 ( $\beta = -0.17$ ,  $t$ value =  $-5.80$ ,  $p$ -value =  $9.22e-06$ ). For Bartonella, the slope was negative, although the effect size was small ( $\beta = -0.04$ ,  $t$ value =  $-3.58$ ,  $p$ -value =  $0.001$ ). This implies that the abundance of the most competent hosts decreased, but it remained higher than that of less competent hosts (Fig.S9; Sup. Table 8).

An increase in the most competent hosts' abundance with increasing Shannon community diversity was observed for all other pathogens (Mhae1, Mcoc, Mhae3, Lept) (Fig.4A; Sup. Table 8).

Lastly, we found that the slope of the regression between the competence-weighted relative hosts abundance and small mammal biodiversity was positively correlated with the slope of the regression between prevalence and biodiversity (Fig. 4B). Only *Leptospira* appeared to have a higher estimate than expected for the competence-weighted relative abundance of hosts (Fig. 4B).



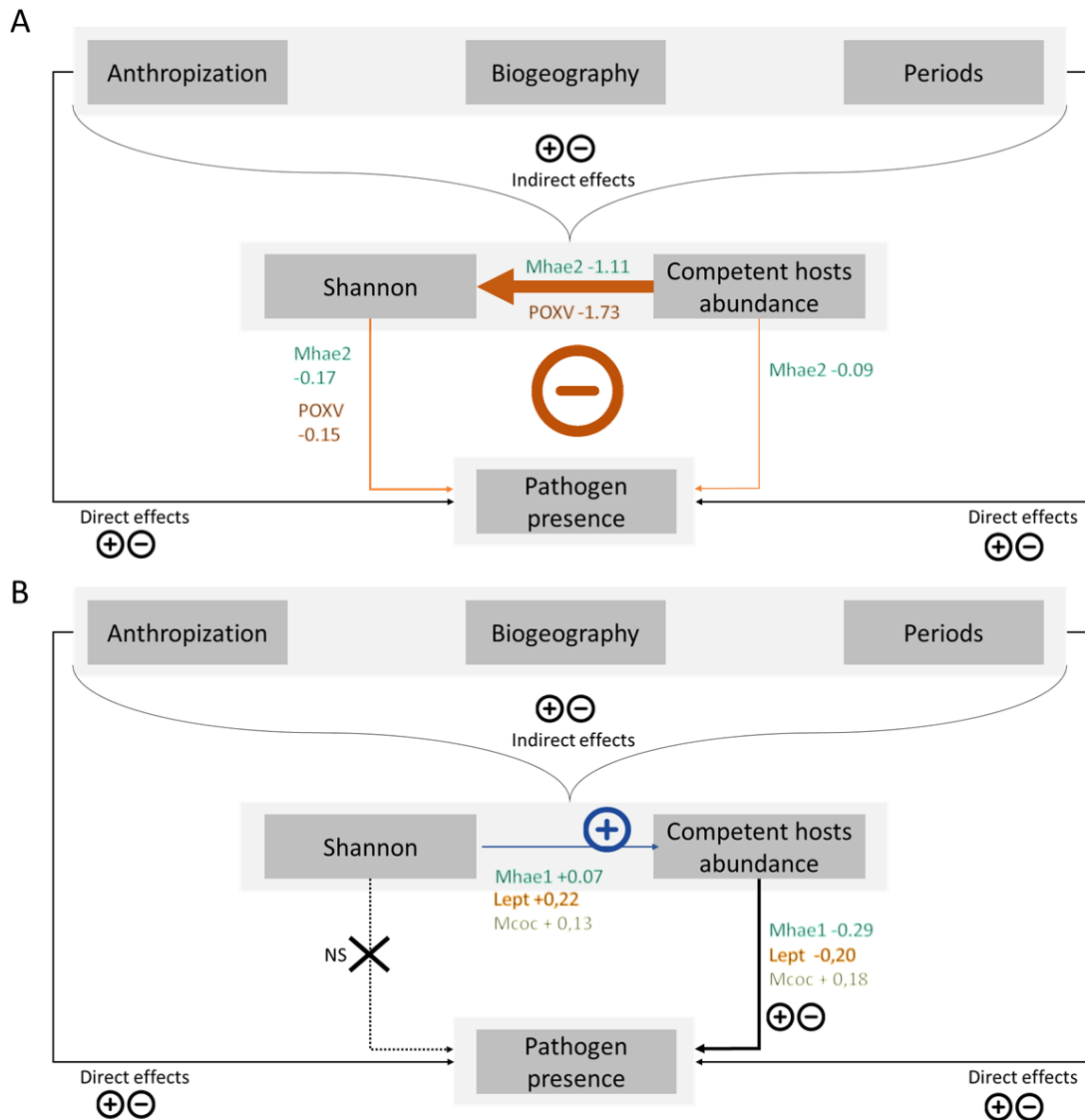
**Fig. 4** A. Most weighted abundance of the most competent host plotted against the Shannon index. B. Relationship between the estimated slope of the regression between pathogens prevalence and Shannon index and the estimated slope of the regression between most competence-weighted host abundance and the Shannon index on the other side. Pathogens are color-coded. Data points represent estimates obtained using Generalized Linear Models (GLMs), while error bars show confidence intervals derived from the same models. A background in orange indicates a dilution effect, while a blue background indicates an amplification effect, with white indicating zero effect.

### *Influence of environment on pathogen presence and small mammal biodiversity*

Best structural equation models (SEM) were performed for each pathogen (**Fig.5**).

The best SEM obtained for POXV (Fischer's C = 0.35, p-value = 0.84,  $R^2_{\text{presence}} = 0.21$ ) and Mhae2 (Fischer's C = 5.87, p-value = 0.44,  $R^2_{\text{presence}} = 0.06$ ) showed that a decrease in biodiversity led to an increase in pathogen presence (POXV: Std. Estimate = -0.15, p-value =  $1.00e-03$ , Mhae2: Std. Estimate = -0.17, p-value  $<1.00e-03$ ), as expected under the dilution effect. This decrease in biodiversity was associated with a higher relative abundance of the most competent hosts (POXV: Std. Estimate = - 1.16, p-value  $< 1.00e-03$ , Mhae2: Std. Estimate = -1.10, p-value  $< 1.00e-03$ ). These models also revealed that anthropization and other environmental factors had a significant influence on the presence of pathogens through either direct or indirect interactions via their impact on the abundance of the most competent hosts (**Sup. Table 9**).





**Fig.5** Summary of the SEMs performed on A. POXV, Mhae2 and B. Mhae2 and Mcoc, to highlight the factors shaping the presence of pathogens: **A.** Dilution effects and **B.** Amplification effects. Arrows indicate the effects, with orange representing negative relationships and blue representing positive relationships. Black arrows represent relationships that could be either positive or negative. Crosses and dotted arrows indicate non-significant effects.

The best models provided a good fit for explaining the presence of *Mhea1* (Fischer’s C= 13.17, p-value=0.106, R<sup>2</sup>=0.07) and *Mcoc* (Fischer’s C= 4.43, p-value=0.35, R<sup>2</sup>=0.02). In all cases, we did not observe a direct effect of diversity on pathogen presence (**Sup. Table 9**), but an indirect effect through the abundance of most competent hosts. This abundance was positively correlated with biodiversity (Mhea1: Std. Estimate = 0.08, p-value < 1.10<sup>-3</sup>, Mcoc: Std. Estimate = 0.13, p-value = < 1.10<sup>-3</sup>) and pathogen presence (Mhea1: Std. Estimate = 0.29, p-value < 1.10<sup>-3</sup>, Mcoc: Std. Estimate = 0.19, p-value = < 1.10<sup>-3</sup>) (**Sup. Table 9**). Other environmental factors

could also influence pathogen presence through the abundance of competent hosts or diversity but not directly (**Sup. Table 9**).

For *Bartonella*, the best SEM (Fisher's C = 7.29, p-value = 0.70,  $R^2_{\text{presence}}=0.02$ ) revealed that biodiversity positively influenced the presence of this bacteria (Std. Estimate = 0.15, p-value =  $< e-03$ ), but the abundance of the most competent hosts was negatively correlated with biodiversity and anthropization (**Sup. Table 9**). Other environmental factors could also influence *Bartonella's* presence, but only indirectly through their impact on the abundance of the most competent hosts or on biodiversity (**Sup. Table 9**).

For Mhea3, the best SEM (Fisher's C = 3.84, p-value = 0.43,  $R^2_{\text{presence}}=0.03$ ) showed that biodiversity had a negative influence on pathogen presence and was positively correlated with the abundance of the most competent hosts (Std. Estimate = -0.21, p-value =  $< e-03$ ). Anthropization negatively influenced Mhea3 presence, and other environmental factors had both direct and indirect positive effects on this pathogen (**Sup. Table 9**).

The best SEM for *Leptospira* (Fischer's C = 1.33, p-value = 0.514,  $R^2_{\text{presence}}=0.11$ ) showed that the presence of this pathogen was directly influenced by the sampling period and environmental effects, but not by small mammal biodiversity or abundance of the most competent hosts (**Sup. Table 9**).

## E. Discussion

### *Differential pathogen responses to prevalence-biodiversity relationships*

This study explores the various relationships between biodiversity and pathogen prevalence within a multi-host community, all within the framework of a single empirical study, thus freeing us from study bias. These relationships show various trends: negative effects, such as those observed for *Orthopoxvirus* and *Mycoplamsa haemomuris strain 2*, indicating a dilution effect; positive effects, particularly for *Mycoplasma coxcoïdes* and *Mycoplasma haemomuris strain 1*, suggesting an amplification effect; or non-significant results for *Mycoplasma haemomuris strain 3*, *Leptospira* and *Bartonella*, suggesting a weak influence of biodiversity, opposing effects acting at the same time, or no impact on pathogens.

These various results suggest that biodiversity can have a variable impact on different pathogens, either promoting or reducing their prevalence. This duality has already been observed in studies showing contradictory effects of diversity on different host-pathogen

systems (Luis et al., 2018a; Wood et al., 2014). In addition, studies also focusing on several pathogens in the same ecosystem also demonstrated opposing effects between pathogens in avian systems (Ferraguti et al., 2021), and rodent system (Kedem et al., 2014) .

Not surprisingly, the biodiversity-pathogen relationship differs between the pathogens studied, not only because of their unique relationship with their hosts. All pathogens differed in terms of their most competent hosts. Although we did not test the influence of ecological characteristics of pathogens and hosts on host competence, we found no differences in competence between pathogen types, neither their mode of transmission, or host specificity (Fig. 3).

Moreover, we also observed different relationships among pathogens of the same species, particularly among *Mhae* strains. However, it is important to note that our detection of *Bartonella* and *Leptospirosis* pathogens was done at a low taxonomic resolution, at the genus level. A previous study carried out on our Lyon samples revealed the presence of several *Leptospirosis* species/strains within the same community. Similarly, for *Bartonella*, a study showed that several species/strains can co-infect a host. These results may introduce some ambiguity and explain the lack of statistical significance in the biodiversity-prevalence relationship. In future, it will be essential to compare pathogens at the finest possible taxonomic level.

#### *The relationship between abundance of most competent hosts and biodiversity as a driver of the dilution/amplification effect*

Although not extensively tested due to the limited number of pathogens, the wide variation in competence between multi-host species appears to be the source of non-neutral effects. This variation is a necessary condition for non-competent hosts to influence transmission within competent hosts via their reduction in abundance or via their reduction in contacts (Felicia Keesing & Ostfeld, 2021b).

Several studies suggest that pathogens tend to target the same host types (Becker et al., 2020), particularly the most abundant species in low-diversity environments (Gibb et al., 2020; Johnson et al., 2020). In addition, the most competent host species generally exhibit greater abundance and resistance to disturbance (Rohr et al., 2020). However, in this case, the most competent host species were not the same depending on the pathogen, and therefore not

always the most abundant. However, the correlation between competence-weighted host abundance and small mammal biodiversity proved to be a robust predictor of the prevalence-diversity relationship (Fig. 4B). The higher the correlation, the more pronounced the effect of diversity on prevalence.

On one hand, when the abundance of the most competent hosts was negatively correlated with diversity, we observed a negative correlation between diversity and pathogen prevalence. This dilution effect was observed for both POXV and Mhae2. This observation has been made in many other empirical studies and suggests that diversity reduces the abundance of competent hosts (e.g. Khalil et al., 2014; Yates et al., 2002). Furthermore, the relative abundance of competent hosts had an indirect effect on pathogen prevalence by increasing diversity. This suggests that diversity, in and of itself, influences pathogen prevalence, implying that biodiversity could also reduce pathogen transmission, as described by Keesing et al. (2010).

In contrast, when there was a positive correlation between the abundance of the most competent hosts and diversity, the correlation between diversity and prevalence had different outcomes. For some pathogens (Mhae3, Lept, Bart), the correlation was non-significant, or it showed a small effect size. However, for Mhae1 and Mcoc, the correlation was positive, explaining amplification effects. The strength of the correlation between the abundance of competent hosts and diversity influenced the magnitude of the effect of diversity on prevalence. In the case of Mhea1 and Mcoc, diversity indirectly influenced pathogen presence by increasing the abundance of the most competent hosts. Consequently, community-level prevalence was primarily explained by the abundance of these competent hosts. This suggests that diversity may not primarily act by reducing contact frequency, or that such reduction is not substantial compared to the abundance of competent hosts. However, high biodiversity was associated with higher anthropogenic pressures (sup fig). These pressures can influence communities in a way that favors more additive assemblages (Ofori et al., 2018a), mainly due to reduced competition for resources. Thus, even if host abundance is reduced by diversity, hosts are additive, inevitably increasing zoonotic danger.

Several mechanisms can thus operate together within the same community, on one hand, so that diversity promotes competent hosts for one pathogen at the expense of competent hosts for another pathogen. However, several competitive mechanisms could also be at play, leading to a situation where diversity could both dilute and amplify the same pathological system

(Keesing & Ostfeld, 2021; Luis et al., 2018), especially if multiple strains/species are present in the same community. For example, diversity showed signs of reducing the prevalence of *Mhea3*, suggesting a reduction in contact, while the abundance of the most competent *Mhae3* hosts increased with diversity. Conversely, diversity may limit the abundance of competent *Bartonella* hosts, but not enough to make competent hosts outnumber non-competent ones, thus promoting more contact in areas with numerous *Bartonella* hosts in highly diverse environments. Finally, the environment could directly influence the presence of pathogens, explaining a null relationship between biodiversity and pathogenicity.

#### *Biodiversity-prevalence relationships depend on environmental context*

Biodiversity-prevalence relationships can be context-dependent in the way that the environment influences pathogens or host communities and their competence (Halliday et al., 2021).

Our research emphasizes how the environment affects the presence of pathogens by influencing species diversity and composition within various host communities. Simultaneously, the environment directly influences the presence of these pathogens, with each one responding uniquely. For instance, only environmental factors explained the prevalence of *Leptospira*. These intricate interactions among the environment, host biodiversity, and environment-pathogen interactions are frequently discussed in scientific literature, highlighting their critical importance and distinctive dynamics. This holistic approach is gaining momentum, as seen in the detailed studies on parasite presence by Halliday et al. (2021) and Schwensow et al. (2022). Nonetheless, our investigations reveal that the direct and indirect effects vary depending on the specific pathogen under consideration. Thus, we advocate for targeted studies examining these effects on the distribution of each individual pathogen.

In addition, our study demonstrated that environmental factors can differently influence the abundance of competent hosts, depending on the studied pathogens. These findings align with the study by Halliday et al. (2021), which highlights the environmental influence on host functional traits and community competence. Furthermore, Schwensow et al. (2022) showed that the environment can have indirect effects on parasite presence or diversity, acting through the host's genetics and microbiota.

For future research, it would be prudent to delve into studying the environmental impact on the functional traits of hosts and pathogens, as well as their genetics and microbial interactions, whether pathogenic or commensal. Additionally, it would be opportune to expand the analysis to consider other abiotic and biotic factors, such as the presence of vectors. This inclusion is particularly significant for pathogens whose transmission mode depends on these vectors, an aspect that has often been recognized as playing a substantial role in their spread. A systematic investigation of these factors would provide a better understanding of the specific contexts related to host-pathogen interactions, notably explaining pathogen presence and the composition and diversity of host communities.

*The importance of considering the relative abundance of competent hosts in dynamic contexts for improved zoonotic hazard prevention, beyond diversity alone.*

Experiments have shown that when communities naturally disassemble, biodiversity significantly reduces diseases, further supporting this hypothesis (Johnson et al., 2019; Liu et al., 2018). Even if an increase in non-competent hosts for a pathogen can prevent the increase of another competent host for the same pathogen, this non-competent host may be competent for other pathogens. Thus, maintaining balance can reduce the disproportionate increase in host abundance, keeping prevalence levels low for all pathogens.

This implies that a major imbalance within a community can lead either to a dilution effect, with a decrease in diversity and an increase in pathogen prevalence, or to an amplification effect, with a simultaneous increase in host abundance, diversity and pathogen prevalence.

We draw attention to environments where the abundance of hosts is disproportionately skewed within a community, creating an "ecological vortex" that can lead to an escalating amplification of amplification effects or an increased reduction of dilution effects. It has often been noted that human activities can disrupt host communities, fostering imbalances that increase the likelihood of dilution effects (Halliday et al., 2020; Ostfeld & Keesing, 2017). Similarly, when competent hosts become highly abundant, especially during natural interannual or seasonal cycles, this can result in a significant increase in pathogen prevalence (Tian & Stenseth, 2019). We also caution against the use of certain management techniques, such as species elimination, as this can diminish diversity and promote imbalances in communities by favoring species competent for other pathogens. We instead recommend approaches that maintain host abundance at stable levels. A thorough understanding of the

environmental system, host communities, and all residing pathogens, along with their interactions, is crucial before implementing management strategies (Hopkins et al., 2020).

## Conclusion

It is crucial to acknowledge the diverse relationships between biodiversity and pathogens that coexist within the same system. Given the direct and indirect environmental influences on these interactions, a deeper understanding of these factors is imperative to effectively prevent the disproportionate increase in host abundance. This phenomenon, especially when competent hosts predominate over less competent ones, can disrupt communities and heighten the potential risks of dilution or amplification effects. As anthropogenic pressures escalate and community disassemblies become more frequent, we issue a warning about the looming rise in zoonotic risk in the coming years.

### *Declaration of Competing Interest*

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

### *Data availability*

Supplementary data associated with this article can be found in **Annexe drive** :

### Supplementary Table:

[https://docs.google.com/spreadsheets/d/1y9AzSRH2ApQkyOZ6HwX3\\_vYwbT7362rg5DtNx7r9fC4/edit?usp=drive\\_link](https://docs.google.com/spreadsheets/d/1y9AzSRH2ApQkyOZ6HwX3_vYwbT7362rg5DtNx7r9fC4/edit?usp=drive_link)

### Supplementary Figures:

[https://docs.google.com/document/d/1yvVZ20wxyI6EkqtFoli1Ru2ItpJ4KNvmv8jiGNX8xSc/edit?usp=drive\\_link](https://docs.google.com/document/d/1yvVZ20wxyI6EkqtFoli1Ru2ItpJ4KNvmv8jiGNX8xSc/edit?usp=drive_link)

The raw data has been deposited on Zenodo, and the script will be deposited on GitHub.

### *Acknowledgements*

Thanakorn Niamsap, Sofia Greilich, Ella Ahviainen, Ella Lintunen, Akseli Valta, Hayder Assad, Eetu Sironen, Vinaya Venkat helped with the IFA.



Funding : This research was funded through the 2018-2019 BiodivERsA joint call for research proposals, under the BiodivERsA3 ERA-Net COFUND programme, and with the funding organisations ANR (France).

## F. References

- Abbate, J. L., Galan, M., Razzauti, M., Sironen, T., Voutilainen, L., Henttonen, H., Gasqui, P., Cosson, J.-F., & Charbonnel, N. (2021). Pathogen community composition and co-infection patterns in a wild community of rodents. *BioRxiv*, 2020.02.09.940494. <https://doi.org/10.1101/2020.02.09.940494>
- Altizer, S., Dobson, A., Hosseini, P., Hudson, P., Pascual, M., & Rohani, P. (2006). Seasonality and the dynamics of infectious diseases. *Ecology Letters*, 9(4), 467–484. <https://doi.org/10.1111/J.1461-0248.2005.00879.X>
- Andreassen, H. P., Sundell, J., Ecke, F., Halle, S., Haapakoski, M., Henttonen, H., Huitu, O., Jacob, J., Johnsen, K., Koskela, E., Luque-Larena, J. J., Lecomte, N., Leirs, H., Mariën, J., Neby, M., Rätti, O., Sievert, T., Singleton, G. R., van Cann, J., ... Ylönen, H. (2020). Population cycles and outbreaks of small rodents: ten essential questions we still need to solve. *Oecologia* 2020 195:3, 195(3), 601–622. <https://doi.org/10.1007/S00442-020-04810-W>
- Aplin, K. P., Brown, P. R., Jacob, J., Krebs, C. J., & Singleton, G. R. (2003). Field methods for rodent studies in Asia and the Indo-Pacific. *Monographs*. <https://doi.org/10.22004/AG.ECON.114053>
- Auffray, J.-C., Renaud, S., & Claude, J. (2009). Rodent Biodiversity in Changing Environments. *Agriculture and Natural Resources*, 43(1), 83–93. <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/anres/article/view/244641>
- Baker, R. E., Mahmud, A. S., Miller, I. F., Rajeev, M., Rasambainarivo, F., Rice, B. L., Takahashi, S., Tatem, A. J., Wagner, C. E., Wang, L. F., Wesolowski, A., & Metcalf, C. J. E. (2021). Infectious disease in an era of global change. *Nature Reviews Microbiology* 2021 20:4, 20(4), 193–205. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00639-z>
- Bogdziewicz, M., Zwolak, R., Redosh, L., Rychlik, L., & Crone, E. E. (2016). Negative effects of density on space use of small mammals differ with the phase of the masting-induced population cycle. *Ecology and Evolution*, 6(23), 8423–8430.

<https://doi.org/10.1002/ECE3.2513>

- Bolyen, E., Rideout, J. R., Dillon, M. R., Bokulich, N. A., Abnet, C. C., Al-Ghalith, G. A., Alexander, H., Alm, E. J., Arumugam, M., Asnicar, F., Bai, Y., Bisanz, J. E., Bittinger, K., Brejnrod, A., Brislawn, C. J., Brown, C. T., Callahan, B. J., Caraballo-Rodríguez, A. M., Chase, J., ... Caporaso, J. G. (2019). Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology* 2019 37:8, 37(8), 852–857. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 581. <https://doi.org/10.1038/NMETH.3869>
- Camacho, C., Coulouris, G., Avagyan, V., Ma, N., Papadopoulos, J., Bealer, K., & Madden, T. L. (2009). BLAST+: architecture and applications. *BMC Bioinformatics*, 10, 421. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-10-421>
- Cardinale, B. J., Duffy, J. E., Gonzalez, A., Hooper, D. U., Perrings, C., Venail, P., Narwani, A., MacE, G. M., Tilman, D., Wardle, D. A., Kinzig, A. P., Daily, G. C., Loreau, M., Grace, J. B., Larigauderie, A., Srivastava, D. S., & Naeem, S. (2012). Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature*, 486(7401), 59–67. <https://doi.org/10.1038/NATURE11148>
- Civitello, D. J., Cohen, J., Fatima, H., Halstead, N. T., Liriano, J., McMahon, T. A., Ortega, C. N., Sauer, E. L., Sehgal, T., Young, S., & Rohr, J. R. (2015). Biodiversity inhibits parasites: Broad evidence for the dilution effect. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(28), 8667–8671. <https://doi.org/10.1073/pnas.1506279112>
- Clay, C. A., Lehmer, E. M., Jeor, S. S., & Dearing, M. D. (2009). Testing mechanisms of the dilution effect: Deer mice encounter rates, sin nombre virus prevalence and species diversity. *EcoHealth*, 6(2), 250–259. <https://doi.org/10.1007/s10393-009-0240-2>
- Dearing, M. D., Clay, C., Lehmer, E., & Dizney, L. (2015). The roles of community diversity and contact rates on pathogen prevalence. *Journal of Mammalogy*, 96(1), 29–36. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyu025>
- Dizney, L. J., & Ruedas, L. A. (2009). Increased host species diversity and decreased prevalence

- of sin nombre virus. *Emerging Infectious Diseases*, 15(7), 1012–1018.  
<https://doi.org/10.3201/eid1507.081083>
- Dobigny, G., Garba, M., Tatard, C., Loiseau, A., Galan, M., Kadaouré, I., Rossi, J. P., Picardeau, M., & Bertherat, E. (2015). Urban Market Gardening and Rodent-Borne Pathogenic *Leptospira* in Arid Zones: A Case Study in Niamey, Niger. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9(10). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PNTD.0004097>
- Engering, A., Hogerwerf, L., & Slingenbergh, J. (2013). Pathogen–host–environment interplay and disease emergence. *Emerging Microbes & Infections*, 2(2), e5.  
<https://doi.org/10.1038/EMI.2013.5>
- Escudié, F., Auer, L., Bernard, M., Mariadassou, M., Cauquil, L., Vidal, K., Maman, S., Hernandez-Raquet, G., Combes, S., & Raldine Pascal, G. (2018). *FROGS: Find, Rapidly, OTUs with Galaxy Solution*. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx791>
- Ferraguti, M., Martínez-De la Puente, J., Jiménez-Clavero, M. Á., Llorente, F., Roiz, D., Ruiz, S., Soriguer, R., & Figuerola, J. (2021). A field test of the dilution effect hypothesis in four avian multi-host pathogens. *PLOS Pathogens*, 17(6), e1009637.  
<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1009637>
- Fischer, J. D., Schneider, S. C., Ahlers, A. A., & Miller, J. R. (2015). Categorizing wildlife responses to urbanization and conservation implications of terminology. *Conservation Biology*, 29(4), 1246–1248. <https://doi.org/10.1111/COBI.12451>
- Galan, M., Razzauti, M., Bard, E., Bernard, M., Brouat, C., Charbonnel, N., Dehne-Garcia, A., Loiseau, A., Tatard, C., Tamisier, L., Vayssier-Taussat, M., Vignes, H., & Cosson, J.-F. (2016). 16S rRNA Amplicon Sequencing for Epidemiological Surveys of Bacteria in Wildlife. *MSystems*, 1(4), 1–22. <https://doi.org/10.1128/msystems.00032-16>
- Gibb, R., Redding, D. W., Chin, K. Q., Donnelly, C. A., Blackburn, T. M., Newbold, T., & Jones, K. E. (2020). Zoonotic host diversity increases in human-dominated ecosystems. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2562-8>
- Halliday, F. W., Jalo, M., & Laine, A. L. (2021). The effect of host community functional traits on plant disease risk varies along an elevational gradient. *ELife*, 10. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.67340>

- Halliday, F. W., & Rohr, J. R. (2019). Measuring the shape of the biodiversity-disease relationship across systems reveals new findings and key gaps. *Nature Communications* 2019 10:1, 10(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13049-w>
- Halliday, F. W., Rohr, J. R., & Laine, A.-L. (2020). Biodiversity loss underlies the dilution effect of biodiversity. *BioRxiv*, 2020.04.20.050377. <https://doi.org/10.1101/2020.04.20.050377>
- Han, B. A., Castellanos, A. A., Schmidt, J. P., Fischhoff, I. R., & Drake, J. M. (2021). The ecology of zoonotic parasites in the Carnivora. *Trends in Parasitology*, 37(12), 1096–1110. <https://doi.org/10.1016/J.PT.2021.08.006/ATTACHMENT/7A71EEDA-318C-463F-A943-516A1A8EEBDA/MMC1.XLSX>
- Han, B. A., Schmidt, J. P., Bowden, S. E., & Drake, J. M. (2015). Rodent reservoirs of future zoonotic diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. <https://doi.org/10.1073/pnas.1501598112>
- Hartig, F. (2022). *Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level / Mixed) Regression Models [R package DHARMA version 0.4.6]*. <https://cran.r-project.org/package=DHARMA>
- Henttonen, H. (2022). Importance of demography in understanding disease ecology in small mammals. *Therya*, 13(1), 33–38. <https://doi.org/10.12933/THERYA-22-1190>
- Hopkins, S. R., Lafferty, K. D., Wood, C. L., Olson, S. H., Buck, J. C., De Leo, G. A., Fiorella, K. J., Fornberg, J. L., Garchitorena, A., Jones, I. J., Kuris, A. M., Kwong, L. H., LeBoa, C., Leon, A. E., Lund, A. J., MacDonald, A. J., Metz, D. C. G., Nova, N., Peel, A. J., ... Sokolow, S. H. (2022). Evidence gaps and diversity among potential win–win solutions for conservation and human infectious disease control. *The Lancet Planetary Health*, 6(8), e694–e705. [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(22\)00148-6/ATTACHMENT/D62083CA-BB9D-41AB-BE52-586ECCFC0985/MMC1.PDF](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(22)00148-6/ATTACHMENT/D62083CA-BB9D-41AB-BE52-586ECCFC0985/MMC1.PDF)
- Hopkins, S. R., Sokolow, S. H., Buck, J. C., De Leo, G. A., Jones, I. J., Kwong, L. H., LeBoa, C., Lund, A. J., MacDonald, A. J., Nova, N., Olson, S. H., Peel, A. J., Wood, C. L., & Lafferty, K. D. (2020). How to identify win–win interventions that benefit human health and conservation. *Nature Sustainability* 2020 4:4, 4(4), 298–304. <https://doi.org/10.1038/s41893-020-00640-z>
- Hopkins, S. R., Sokolow, S. H., Buck, J. C., De Leo, G. A., Jones, I. J., Kwong, L. H., LeBoa, C., Lund,

- A. J., MacDonald, A. J., Nova, N., Olson, S. H., Peel, A. J., Wood, C. L., & Lafferty, K. D. (2021). How to identify win–win interventions that benefit human health and conservation. *Nature Sustainability*, *4*(4), 298–304. <https://doi.org/10.1038/s41893-020-00640-z>
- Huang, Z. Y. X., LANGEVELDE, F. VAN, ESTRADA-PEÑA, A., SUZÁN, G., & BOER, W. F. DE. (2016). The diversity–disease relationship: evidence for and criticisms of the dilution effect. *Parasitology*, *143*(9), 1075–1086. <https://doi.org/10.1017/S0031182016000536>
- Johnson, E. E., Escobar, L. E., & Zambrana-Torrel, C. (2019). An Ecological Framework for Modeling the Geography of Disease Transmission. In *Trends in Ecology and Evolution* (Vol. 34, Issue 7, pp. 655–668). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.03.004>
- Johnson, J. B., & Omland, K. S. (2004). Model selection in ecology and evolution. *Trends in Ecology and Evolution*, *19*(2), 101–108. <https://doi.org/10.1016/J.TREE.2003.10.013>
- Kallio-Kokko, H., Laakkonen, J., Rizzoli, A., Tagliapietra, V., Cattadori, I., Perkins, S. E., Hudson, P. J., Cristofolini, A., Versini, W., Vapalahti, O., Vaheri, A., & Henttonen, H. (2006). Hantavirus and arenavirus antibody prevalence in rodents and humans in Trentino, Northern Italy. *Epidemiology and Infection*, *134*(4), 830–836. <https://doi.org/10.1017/S0950268805005431>
- Kedem, H., Cohen, C., Messika, I., Einav, M., Pilosof, S., & Hawlena, H. (2014). Multiple effects of host-species diversity on coexisting host-specific and host-opportunistic microbes. *Ecology*, *95*(5), 1173–1183. <https://doi.org/10.1890/13-0678.1>
- Keesing, F., Holt, R. D., & Ostfeld, R. S. (2006). Effects of species diversity on disease risk. In *Ecology Letters* (Vol. 9, Issue 4, pp. 485–498). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.00885.x>
- Keesing, Felicia, Belden, L. K., Daszak, P., Dobson, A., Harvell, C. D., Holt, R. D., Hudson, P., Jolles, A., Jones, K. E., Mitchell, C. E., Myers, S. S., Bogich, T., & Ostfeld, R. S. (2010). Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases. *Nature*, *468*(7324), 647–652. <https://doi.org/10.1038/nature09575>
- Felicia, F., & Ostfeld, R. S. (2021). Impacts of biodiversity and biodiversity loss on zoonotic diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *118*(17). <https://doi.org/10.1073/PNAS.2023540118>

- Khalil, H., Ecke, F., Evander, M., Magnusson, M., & Hörnfeldt, B. (2016). Declining ecosystem health and the dilution effect. *Scientific Reports*, 6(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/srep31314>
- Khalil, H., Hörnfeldt, B., Evander, M., Magnusson, M., Olsson, G., & Ecke, F. (2014). Dynamics and Drivers of Hantavirus Prevalence in Rodent Populations. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 14(8), 537–551. <https://doi.org/10.1089/vbz.2013.1562>
- Lê, S., Josse, J., & Husson, F. (2008). {FactoMineR}: A Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software*, 25(1), 1–18. <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>
- Lefcheck, J. S. (2016). piecewiseSEM: Piecewise structural equation modelling in r for ecology, evolution, and systematics. *Methods in Ecology and Evolution*, 7(5), 573–579. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12512>
- Liu, X., Chen, F., Lyu, S., Sun, D., & Zhou, S. (2018). Random species loss underestimates dilution effects of host diversity on foliar fungal diseases under fertilization. *Ecology and Evolution*, 8(3), 1705–1713. <https://doi.org/10.1002/ECE3.3749>
- Liu, X., Chen, L., Liu, M., García-Guzmán, G., Gilbert, G. S., & Zhou, S. (2020). Dilution effect of plant diversity on infectious diseases: latitudinal trend and biological context dependence. *Oikos*, 129(4), 457–465. <https://doi.org/10.1111/OIK.07027>
- Luis, A. D., Kuenzi, A. J., & Mills, J. N. (2018). Species diversity concurrently dilutes and amplifies transmission in a zoonotic host–pathogen system through competing mechanisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. <https://doi.org/10.1073/pnas.1807106115>
- Magnusson, M., Fischhoff, I. R., Ecke, F., Hörnfeldt, B., & Ostfeld, R. S. (2020). Effect of spatial scale and latitude on diversity–disease relationships. *Ecology*, 101(3). <https://doi.org/10.1002/ecy.2955>
- Martin, L. B., Burgan, S. C., Adelman, J. S., & Gervasi, S. S. (2016). Host Competence: An Organismal Trait to Integrate Immunology and Epidemiology. *Integrative and Comparative Biology*, 56(6), 1225–1237. <https://doi.org/10.1093/ICB/ICW064>
- Mendoza, H., Rubio, A. V., García-Peña, G. E., Suzán, G., & Simonetti, J. A. (2019). Does land-

use change increase the abundance of zoonotic reservoirs? Rodents say yes. *European Journal of Wildlife Research* 2019 66:1, 66(1), 1–5. <https://doi.org/10.1007/S10344-019-1344-9>

Miguel, E., Grosbois, V., Caron, A., Pople, D., Roche, B., & Donnelly, C. A. (2020). A systemic approach to assess the potential and risks of wildlife culling for infectious disease control. *Communications Biology* 2020 3:1, 3(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-1032-z>

Mills, J. N., Childs, J. E., Ksiazek, T. G. (Tom G. ., Peters, C. J. (Clarence J. 1940-, & Velleca, W. M. (1995). *Methods for trapping and sampling small mammals for virologic testing*. <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/11507>

Mora, C., McKenzie, T., Gaw, I. M., Dean, J. M., von Hammerstein, H., Knudson, T. A., Setter, R. O., Smith, C. Z., Webster, K. M., Patz, J. A., & Franklin, E. C. (2022). Over half of known human pathogenic diseases can be aggravated by climate change. *Nature Climate Change* 2022 12:9, 12(9), 869–875. <https://doi.org/10.1038/s41558-022-01426-1>

Ofori, B. Y., Garshong, R. A., Gbogbo, F., Owusu, E. H., & Attuquayefio, D. K. (2018). Urban green area provides refuge for native small mammal biodiversity in a rapidly expanding city in Ghana. *Environmental Monitoring and Assessment*, 190(8), 1–11. <https://doi.org/10.1007/S10661-018-6858-1/METRICS>

Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., Minchin, P. R., O’Hara, R. B., Simpson, G. L., Solymos, P., Stevens, M. H. H., Szoecs, E., & Wagner, H. (2020). *vegan: Community Ecology Package*. <https://cran.r-project.org/package=vegan>

Olival, K. J., Hosseini, P. R., Zambrana-Torrel, C., Ross, N., Bogich, T. L., & Daszak, P. (2017). Host and viral traits predict zoonotic spillover from mammals. *Nature* 2017 546:7660, 546(7660), 646–650. <https://doi.org/10.1038/nature22975>

Ostfeld, R. S., & Keesing, F. (2012). Effects of Host Diversity on Infectious Disease. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 43(1), 157–182. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-102710-145022>

Ostfeld, R. S., & Keesing, F. (2017). Is biodiversity bad for your health? *Ecosphere*, 8(3), e01676. <https://doi.org/10.1002/ECS2.1676>



- Plourde, B. T., Burgess, T. L., Eskew, E. A., Roth, T. M., Stephenson, N., & Foley, J. E. (2017). Are disease reservoirs special? Taxonomic and life history characteristics. *PLOS ONE*, *12*(7), e0180716. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0180716>
- Pradel, J., Bouilloud, M., Loiseau, A., Piry, S., Galan, M., Artige, E., Castel, G., Ferrero, J., Gallet, R., Thuel, G., Vieira, N., & Charbonnel, N. (2022). Small terrestrial mammals (Rodentia and Soricomorpha) along a gradient of forest anthropization (reserves, managed forests, urban parks) in France. *ARPHA Preprints*, *3*, e95662-. <https://doi.org/10.3897/ARPHAPREPRINTS.E95662>
- R Core Team. (2022). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. <https://www.r-project.org/>
- Randolph, S. E., & Dobson, A. D. M. (2012). Pangloss revisited: a critique of the dilution effect and the biodiversity-buffers-disease paradigm. *Parasitology*, *139*(7), 847–863. <https://doi.org/10.1017/S0031182012000200>
- Roberts, M. G., & Heesterbeek, J. A. P. (2018). Quantifying the dilution effect for models in ecological epidemiology. *Journal of The Royal Society Interface*, *15*(140). <https://doi.org/10.1098/RSIF.2017.0791>
- Rohr, J. R., Civitello, D. J., Halliday, F. W., Hudson, P. J., Lafferty, K. D., Wood, C. L., & Mordecai, E. A. (2020). Towards common ground in the biodiversity–disease debate. *Nature Ecology and Evolution*, *4*(1), 24–33. <https://doi.org/10.1038/s41559-019-1060-6>
- Rubio, A. V., Castro-Arellano, I., Mills, J. N., List, R., Ávila-Flores, R., & Suzán, G. (2017). Is species richness driving intra- and interspecific interactions and temporal activity overlap of a hantavirus host? An experimental test. *PLOS ONE*, *12*(11), e0188060. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188060>
- Rudolf, V. H. W., & Antonovics, J. (2005). Species coexistence and pathogens with frequency-dependent transmission. *The American Naturalist*, *166*(1), 112–118. <https://doi.org/10.1086/430674>
- Salkeld, D. J., Padgett, K. A., & Jones, J. H. (2013). A meta-analysis suggesting that the relationship between biodiversity and risk of zoonotic pathogen transmission is idiosyncratic. *Ecology Letters*, *16*(5), 679–686. <https://doi.org/10.1111/ele.12101>

- Schmid, D. W., Fackelmann, G., Wasimuddin, Rakotondranary, J., Ratovonamana, Y. R., Montero, B. K., Ganzhorn, J. U., & Sommer, S. (2022). A framework for testing the impact of co-infections on host gut microbiomes. *Animal Microbiome* 2022 4:1, 4(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/S42523-022-00198-5>
- Schwensow, N. I., Heni, A. C., Schmid, J., Montero, B. K., Brändel, S. D., Halczok, T. K., Mayer, G., Fackelmann, G., Wilhelm, K., Schmid, D. W., & Sommer, S. (2022). Disentangling direct from indirect effects of habitat disturbance on multiple components of biodiversity. *Journal of Animal Ecology*, 91(11), 2220–2234. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.13802>
- Silk, M. J., & Fefferman, N. H. (2021). The role of social structure and dynamics in the maintenance of endemic disease. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 2021 75:8, 75(8), 1–16. <https://doi.org/10.1007/S00265-021-03055-8>
- Stoddard, R. A., Gee, J. E., Wilkins, P. P., McCaustland, K., & Hoffmaster, A. R. (2009). Detection of pathogenic *Leptospira* spp. through TaqMan polymerase chain reaction targeting the LipL32 gene. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 64(3), 247–255. <https://doi.org/10.1016/J.DIAGMICROBIO.2009.03.014>
- Su, M., Jiang, Z., & Hui, C. (2022). How Multiple Interaction Types Affect Disease Spread and Dilution in Ecological Networks. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 10, 862986. <https://doi.org/10.3389/FEVO.2022.862986/BIBTEX>
- Tersago, K., Schreurs, A., Linard, C., Verhagen, R., Van Dongen, S., & Leirs, H. (2008). Population, environmental, and community effects on local bank vole (*Myodes glareolus*) Puumala virus infection in an area with low human incidence. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 8(2), 235–244. <https://doi.org/10.1089/vbz.2007.0160>
- Tian, H., & Stenseth, N. C. (2019). The ecological dynamics of hantavirus diseases: From environmental variability to disease prevention largely based on data from China. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(2). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PNTD.0006901>
- Wolinska, J., & King, K. C. (2009). Environment can alter selection in host–parasite interactions. *Trends in Parasitology*, 25(5), 236–244. <https://doi.org/10.1016/J.PT.2009.02.004>
- Wood, C. L., & Lafferty, K. D. (2013). Biodiversity and disease: a synthesis of ecological perspectives on Lyme disease transmission. *Trends in Ecology & Evolution*, 28(4), 239–247.

<https://doi.org/10.1016/J.TREE.2012.10.011>

Wood, C. L., Lafferty, K. D., DeLeo, G., Young, H. S., Hudson, P. J., & Kuris, A. M. (2014). Does biodiversity protect humans against infectious disease? *Ecology*, *95*(4), 817–832. <https://doi.org/10.1890/13-1041.1>

Wood, C. L., McInturff, A., Young, H. S., Kim, D., & Lafferty, K. D. (2017). Human infectious disease burdens decrease with urbanization but not with biodiversity. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *372*(1722). <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0122>

Yates, T. L., Mills, J. N., Parmenter, C. A., Ksiazek, T. G., Parmenter, R. R., Vande Castle, J. R., Calisher, C. H., Nichol, S. T., Abbott, K. D., Young, J. C., Morrison, M. L., Beaty, B. J., Dunnum, J. L., Baker, R. J., Salazar-Bravo, J., & Peters, C. J. (2002). The Ecology and Evolutionary History of an Emergent Disease: Hantavirus Pulmonary Syndrome Evidence from two El Niño episodes in the American Southwest suggests that El Niño–driven precipitation, the initial catalyst of a trophic cascade that results in a delayed density-dependent rodent response, is sufficient to predict heightened risk for human contraction of hantavirus pulmonary syndrome. *BioScience*, *52*(11), 989–998. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2002\)052\[0989:teaeho\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2002)052[0989:teaeho]2.0.co;2)

### III. Etude théorique

Cette étude correspond à un projet Equipe Recherche Junior [ERJ, bourse de financement du Labex CEMEB obtenue par M. Bouilloud] dont l'objectif était d'intégrer un projet de stage de M2 complémentaire du projet de thèse. Le rapport de stage de Master 2 d'Antoine Canet - co-encadré par Marie Bouilloud, Benjamin Roche et Nathalie Charbonnel, est **en annexe** drive ([https://drive.google.com/file/d/1wUiy48GWeOU-gnN2YAtpkdiiwufGQg1n/view?usp=drive\\_link](https://drive.google.com/file/d/1wUiy48GWeOU-gnN2YAtpkdiiwufGQg1n/view?usp=drive_link) ).

#### *Contributions de la modélisation épidémiologique à l'étude de la gestion des rongeurs avec des avantages réciproques pour la santé publique et la biodiversité*

Marie Bouilloud<sup>1</sup>, Antoine Canet<sup>1</sup>, Nathalie Charbonnel et Benjamin Roche, article en préparation. (<sup>1</sup> premiers co-auteurs)

##### A. Contexte

Le contrôle des populations de rongeurs est impératif pour limiter les risques pour la santé humaine et les dommages matériels que ces animaux peuvent causer (Byers et al., 2019). Ainsi, la gestion des populations de rats en ville implique des campagnes de dératisation régulières, en utilisant des rodenticides tels que les anticoagulants ou des méthodes de piégeages ciblés (Witmer, 2019). L'impact de ces opérations est évalué en terme d'effectifs des populations de rats, mais rarement en terme de changement du risque zoonotique. Or il est envisageable que ces stratégies aient des conséquences non désirées sur la circulation d'agents zoonotiques, notamment car elles perturbent la biodiversité et la composition des communautés animales (par exemple via leur potentiel impact sur des espèces non ciblées ; Bolzoni & De Leo, 2013; Donnelly et al., 2005; Donnelly & Woodroffe, 2012; Miguel et al., 2020; Witmer, 2019). De plus, la réduction des populations de rats peut entraîner des conséquences inattendues en favorisant l'augmentation de la transmission des pathogènes (Lee et al., 2018). Ces opérations de dératisation pourraient ainsi affecter les processus de régulation naturels du danger zoonotique, tels que ceux correspondant à l'effet dilution, et/ou accentuer les effets d'amplification de ce danger.

Dans le parc de la Tête d'Or à Lyon (FRPLTO, chapitre 1), nous avons relevé une prévalence significative (17,2%) de l'Orthohantavirus SEOV chez les rats (Alburkat et al., 2023, soumis). Cette situation est inquiétante pour plusieurs raisons. D'une part, ce virus peut être transmis

aux humains par contact avec les animaux ou par exposition aux déjections d'animaux infectés, et il peut causer une maladie potentiellement grave, le syndrome fébrile hémorragique avec insuffisance rénale (HFRS) (Clement et al., 2019). D'autre part, la forte densité de population de rats en milieu urbain implique des interactions fréquentes entre les rats et les humains, en particulier dans des endroits très fréquentés et riches en ressources alimentaires comme le parc de La Tête d'Or, qui comprend des restaurants et des aires de jeux.

De nombreuses études empiriques ont montré un effet dilution dans les systèmes rongeurs-*Orthohantavirus* (exemple Clay et al., 2009; Khalil et al., 2014, 2016; Tersago et al., 2008, Arnal et al., en cours de révision), c'est-à-dire une diminution de la prévalence du virus avec l'augmentation de la biodiversité des petits mammifères. De telles études sur SEOV sont limitées en raison des difficultés associées à la capture des rats et autres espèces commensales, ce qui rend complexe l'évaluation de la biodiversité de ces communautés (Parsons et al., 2015). De plus, la contribution des mécanismes qui sous-tendent cette relation prévalence/biodiversité pour les Orthohantavirus (**encadré 1**) n'a jamais été testée. Une telle connaissance mécanistique pourrait permettre d'évaluer différentes stratégies de gestion des populations/communautés de la faune sauvage, ou de leur territoire, afin de maintenir une biodiversité permettant de limiter la circulation des pathogènes tels que SEOV (Hopkins et al., 2021). Différentes approches de contrôle des populations existent, et pourraient être mises en œuvre afin de réduire les risques zoonotiques (Hopkins et al., 2022; Miguel et al., 2020). Plusieurs hypothèses ont été suggérées concernant les effets potentiels de ces stratégies de gestion (Arnal et al., en cours de révision), à la fois sur la composition et la diversité des communautés d'hôtes ainsi que sur la transmission des pathogènes, mais n'ont jamais été testées. Étant donné le risque potentiel inhérent à leur mise en œuvre sur le terrain, l'utilisation de modèles épidémiologiques pourrait constituer une alternative viable ou une étape préliminaire pour évaluer le danger zoonotique de ces stratégies de gestion de la biodiversité dans divers contextes (Arnal et al., en cours de révision). Il existe de nombreux modèles épidémiologiques pouvant être appliqués, parmi lesquels certains intègrent les assemblages communautaires (Roche et al., 2012) qui reflètent la propagation des pathogènes dans des systèmes multi-spécifiques. Cette approche a été peu explorée dans le cadre des études sur les rongeurs et les Orthohantavirus et seulement dans des contextes très théoriques.

**Encadré 1 :** Les hantavirus sont des virus à ARN qui peuvent provoquer des maladies infectieuses chez l'homme. Ils ont fourni des modèles naturels, expérimentaux et théoriques intéressants pour étudier l'effet de dilution et comprendre les mécanismes qui en sont responsables. Les hôtes réservoirs des hantavirus sont principalement les rongeurs. Ils sont principalement asymptomatiques et spécifiques (W. P. Guo et al., 2013) . La transmission à l'homme se fait par morsure, contact avec les fluides ou inhalation d'excréments contaminés (Padula et al., 2004). Ils peuvent provoquer une fièvre hémorragique avec des symptômes rénaux (HFRS), principalement en Asie et en Europe (Sanchez et al., 2001) ou des symptômes respiratoires et cardiovasculaires (HCPS), principalement en Amérique (Schmaljohn & Hjelle, 1997).

De nombreuses études de terrain ont montré une corrélation négative entre la diversité des petits mammifères et la prévalence des hantavirus, quel que soit le système hôte-hantavirus considéré (Khalil et al., 2014). Par exemple, en Europe, la prévalence du virus Puumala PUUV dans les populations de son hôte réservoir spécifique, le campagnol roussâtre *Myodes glareolus*, est plus élevée dans les communautés pauvres de petits mammifères, ce qui entraîne un risque accru de transmission à l'homme (Khalil et al., 2016; Ruedas et al., 2004; Voutilainen et al., 2015; Tersago et al., 2008). De même, aux États-Unis, une grande diversité d'espèces de petits mammifères est associée à une prévalence plus faible du SNV dans les populations de son hôte naturel, la souris sylvestre *Peromyscus maniculatus*, ce qui entraîne un risque plus faible de transmission à l'homme (Dearing et al., 2015). Mais la comparaison de plusieurs sites ou études a montré qu'il existe une certaine variabilité dans la détection de cet effet de dilution sur les hantavirus (ex. Boone et al., 1998; Calisher et al., 1999; Luis et al., 2018).

Différents mécanismes semblent sous-tendre l'effet de dilution observé dans les systèmes hantavirus-rongeurs. Un premier mécanisme expliquant potentiellement l'effet de dilution, la "réduction des rencontres", propose que la diversité des petits mammifères diminue la prévalence des hantavirus en réduisant le taux de contact intraspécifique entre les individus hôtes réservoirs (Carver et al., 2011; F. Keesing et al., 2006; Khalil et al., 2014). Ce processus a été corroboré par une enquête de terrain menée par Clay et al. (2009). Ils ont constaté que les interactions intraspécifiques entre les souris sylvestres et la prévalence du SNV étaient plus faibles dans les écosystèmes à forte diversité de rongeurs. Cependant, l'étude expérimentale de Rubio et al. (2017) n'a pas confirmé ce résultat, car aucune différence n'a été détectée dans la fréquence des interactions intraspécifiques entre les hôtes du réservoir dans des communautés manipulées pour représenter différents niveaux de richesse en espèces. Un deuxième mécanisme, la "régulation sensible des hôtes", propose qu'une plus grande diversité de petits mammifères entraîne une diminution de la densité des hôtes réservoirs et, par conséquent, de la prévalence des hantavirus (Khalil et al., 2014; YATES et al., 2002). Les densités pourraient être impactées par une augmentation des relations trophiques, notamment la prédation et la compétition. Khalil et al. (2016) ont montré un tel effet de dilution sur le PUUV en réponse à une diminution de la densité de ses hôtes naturels due à la présence de deux espèces de campagnols en compétition et d'un prédateur. Certaines manipulations expérimentales de la biodiversité des petits mammifères ont confirmé ces résultats (ex. Suzán et al., 2009). Cependant, certaines études n'ont pas réussi à détecter cet effet dépendant de la densité (par ex. Disney and Ruedas 2009; Dearing et al. 2015). Par conséquent, l'effet de dilution dans les systèmes hantavirus-rongeurs et les processus qui sous-tendent les relations entre la diversité et le risque de maladie doivent encore être élucidés, en gardant à l'esprit que plusieurs mécanismes conduisant à des schémas opposés peuvent se produire simultanément, dans le même écosystème (Luis et al., 2018b).

Dans cette étude, nous proposons de développer une approche de modélisation épidémiologique multi-spécifique pour répondre à ces questions concernant l'influence de la composition des communautés de petits mammifères sur la circulation de SEOV dans un parc urbain, afin de tester l'impact des stratégies de contrôle de la faune sur ce danger zoonotique.

Dans un premier temps, nous présentons le modèle épidémiologique, adapté de Roche et al (2012), pour décrire la circulation de SEOV au sein d'une communauté de petits mammifères. Nous avons utilisé des données empiriques (chapitre 1, révision Alburkat et al., 2023) et des bases de données (Pantheria, Jones et al., 2009) pour paramétrer ce modèle.

Dans un second temps, nous avons analysé la relation entre la prévalence de SEOV et la biodiversité des petits mammifères, en modifiant l'abondance relative des espèces hôtes commensales. Enfin, nous avons analysé les effets de la dératisation sur la circulation du virus SEOV, en nous plaçant dans différents contextes épidémiologiques favorables ou défavorables aux espèces commensales. Nous avons considéré diverses méthodes de dératisation, ciblées ou non sur les rats, et plus ou moins intenses, et nous avons évalué si des solutions « gagnant-gagnant » pour réduire la circulation de SEOV tout en préservant la biodiversité pouvaient être identifiées.

## B. Matériels et méthodes

### *Modèle épidémiologique multi-spécifique*

#### **Modèle SI multi-espèces**

Nous avons développé un modèle épidémiologique multi-espèces en nous basant sur nos données empiriques (Chapitre 1) de communautés de petits mammifères et de circulation de *Orthohantavirus Seoul* (SEOV) dans un contexte urbain européen. Six espèces de petits mammifères (*Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*, *Mus musculus*, *Apodemus sylvaticus*, *Crocidura russula*, *Sciurus vulgaris*) ont été intégrées dans le modèle. Nous avons également inclus *R. rattus* car il est présent dans de nombreuses autres villes en Europe (Quéré & Louarn, 2011) et est compétent pour le virus SEOV, bien qu'il ne soit pas présent dans le parc de la tête d'Or (Murphy et al., 2019).

Nous avons utilisé un modèle compartimenté de type SI (Susceptible-Infecté) inspiré du modèle épidémiologique multi-hôte de Roche *et al* (Roche et al., 2012, 2013; Canard et Roche, en préparation), dans lequel chaque espèce correspond à un système d'équations (**Fig.1**):

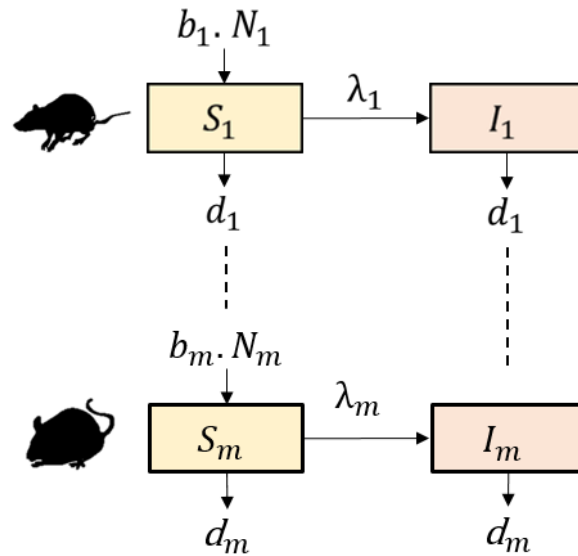


Fig. 1. Modèle multi-espèces SI. S représente la classe des individus susceptibles et I la classe des individus infectés. Chacune des  $m$  espèces possède sa propre équation système avec une matrice de contacts entre les espèces de petits mammifères.

$$\frac{dS_i}{dt} = b_i \cdot N_i - \lambda_i \cdot S_i \cdot I_i - d_i \cdot S_i \quad (1)$$

$$\frac{dI_i}{dt} = \lambda_i \cdot S_i \cdot I_i - d_i \cdot I_i \quad (2)$$

Chaque espèce hôte est identifiée par l'indice  $i$  variant de 1 à  $m$ . L'abondance des espèces hôtes, notée  $N_i$ , est composée d'individus susceptibles  $S_i$  et d'individus infectés, noté  $I_i$ . Les individus naissent, avec un taux de naissance noté  $b_i$ , sont directement considérés comme sensibles. Les individus peuvent soit rester susceptibles et mourir avec un taux de décès  $d_i$ , soit être exposés à la transmission, et devenir infectieux avec un taux de transmission,  $\lambda_i$ . Ces individus infectés peuvent à leur tour infecter d'autres individus susceptibles avec le même taux de transmission ou mourir avec le même taux de décès constant (pas de virulence à l'infection).



## Paramètres biologiques liés à la dynamique de la population

### Taux de naissance $b_i$ et taux de décès $d_i$

Afin de mieux refléter la dynamique des populations de petits mammifères, en particulier leurs cycles démographiques, nous avons intégré une croissance logistique propre à chaque espèce (Bacaër, 2011). La dynamique des populations dépendait d'un taux de naissance intrinsèque à l'espèce, noté  $B_i$  qui était limité lorsque la population  $N_i$  de l'espèce s'approchait d'un maximum d'abondance de l'espèce, appelé capacité de charge  $K_i$ . Nous avons considéré un équilibre démographique, afin que la taille de population moyenne reste constante comme cela est généralement considéré dans la littérature, pour toutes les communautés de petits mammifères, quel que soit le contexte épidémiologique ou la stratégie utilisée de sorte que  $b_i$  soit égal à  $d_i$ .

$$b_i = B_i \cdot \left(1 - \frac{K_i}{N_i}\right)$$

$$d_i = \text{moy}(B_i) \cdot \frac{K_i}{N_i}$$

Les taux de naissance et de décès sont construits à partir de la valeur moyenne de  $B_i$ , représentant le taux de naissance intrinsèque de

l'espèce:

avec  $i$  allant de 1 à  $m$ , représentant l'espèce de petit mammifère et  $K_i$ , la capacité de charge.

Le taux de naissance intrinsèque de l'espèce,  $B_i$ , dépendait des caractéristiques de l'espèce, notamment du nombre de portées par an, de la taille de portée et de la durée de gestation. Ces paramètres ont été définis d'après la base de données PanTHERIA (Jones et al., 2009). Nous avons considéré deux périodes de reproduction entre lesquelles le taux de naissance intrinsèque de l'espèce pouvait varier (Poitevin & Quéré, 2021):

Une période de forte reproduction (printemps et été) représentant 80% du total des naissances :

$$B_i = \frac{0,8 \cdot LS_i}{Gesta_{i,2}}$$

avec  $i$  allant de 1 à  $m$ , représentant l'espèce de petit mammifère.

Et une période de faible reproduction (automne, hiver) représentant 20% du total des naissances :

$$B_i = \frac{0,2 \cdot LS_i \cdot LPY_i \cdot (365 - LPY_i \cdot Gesta_i)}{365^2}$$

avec  $i$  allant de 1 à  $m$ , représentant l'espèce de petit mammifère.

Le nombre de cycle reproductif saisonnier a été déterminé à l'aide du nombre de portée par année :  $LPY$  (Litter per year). L'intensité de ces périodes de reproduction est quantifiée en reliant deux paramètres essentiels : la taille de portée :  $LS$  (Litter Size) et à la durée de gestation ( $Gesta$ ).

Nous avons considéré un ratio équilibré mâles/femelles. Par conséquent, nous avons réduit de moitié le taux de naissance fixe.

### **Paramètres liés à la dynamique de l'infection :**

#### Taux de transmission

Le taux de transmission spécifique à chaque espèce est influencé par la matrice de contacts  $C_{i,j}$ , qui résulte des interactions entre les individus de l'espèce  $i$  et des autres espèces, la susceptibilité de chaque individu ( $\tau_j$ ) et le rapport entre le nombre d'individus infectés et le nombre total d'individus dans la communauté (transmission dite fréquence-dépendante).

$$\lambda_i(t) = \sum_{j=1}^m C_{i,j} \cdot \frac{I_j(t)}{N_{tot}(t)} \cdot \tau_j$$

Les indices  $i$  et  $j$  vont de 1 à  $m$ , et correspondent aux espèces de petits mammifères.  $C_{i,j}$ , le taux de contact entre les espèces  $i$  et  $j$ .  $I_j(t)$  correspond au nombre d'infectés de l'espèce  $j$ .  $N_{tot}(t)$  est l'abondance totale et  $j$  la compétence.

#### Abondance totale de chaque espèce

$N_{tot}(t)$  représente l'abondance totale des espèces de petits mammifères et dépend du temps. L'abondance initiale arbitraire de chaque espèce est de 20, inspirée des données empiriques, mais non précise en raison des limites de piégeages et de mesure de taux de succès de piégeage, proxy de l'abondance relative et non absolue (chapitre1).

#### Matrice de contact $C$

La matrice de contact  $C$  est inspirée de la matrice de contacts symétriques définie dans Roche et al.(2012). Dans notre contexte, les coefficients ont été établis sur la base de la littérature (Poitevin & Quéré, 2021), selon les probabilités de partage d'habitats (arboricoles, prairies,

forêts, immeubles) et/ou de contact (compétition, combats) entre espèces. Les coefficients des contacts intra-spécifiques ont été fixés à 1 pour toutes les espèces indiquant des contacts importants, ce qui équivaut à un fort taux de contact. Les coefficients inter-spécifiques sont considérés comme faibles avec une valeur de 0.001, modérés avec une valeur de 0.01 ou relativement élevés avec une valeur de 0.1.

### Susceptibilité

$\tau$  représente le taux de susceptibilité à SEOV, que l'on définit comme la probabilité pour un individu d'être infecté par le virus et de le transmettre. Dans le modèle, seul le rat noir (*Rattus rattus*) et le rat brun (*Rattus norvegicus*) sont susceptibles au virus Seoul. Les taux de susceptibilité ne sont pas connus. En revanche les prévalences maximales de SEOV décrites dans la littérature oscillent entre 30 et 40% (15% de prévalence moyenne dans nos données empiriques, chapitre 1). Nous avons choisi le taux de susceptibilité à SEOV permettant d'être cohérent avec ces valeurs de prévalence maximale. *R. rattus* étant supposé être légèrement moins susceptible à SEOV que *R. norvegicus*, nous lui avons attribué une valeur de 80% de la valeur de la susceptibilité de *R. norvegicus*.

Tableau 1. Description des paramètres du modèle épidémiologique

Paramètres	Descriptions	Unités	Valeurs par espèce						Source
			<i>R. norvegicus</i>	<i>R. rattus</i>	<i>M. musculus</i>	<i>C. rossula</i>	<i>S. vulgaris</i>	<i>A. sylvaticus</i>	
Paramètres liés à la dynamique des populations									
<b>LPY</b>	Nombre de pics par an (Litter Per Year)	nombre de portée par an	3.5	3.75	4.5	4.0	2.0	3.75	PanTHERIA
<b>LS</b>	Taille de chaque portée (Litter Size)	nombre de petits mammifères	8.99	5.88	5.54	4.04	4.50	5.16	PanTHERIA
<b>Gesta</b>	Temps de gestation	jour	22.0	23.0	20.0	29.0	38.0	24.0	PanTHERIA
<b>K</b>	Seuil de population maximum	nombre de petits mammifères	100						empirique
<b>Ntot</b>	Abondance totale (valeur initiale)	nombre de petits mammifères	120 (20 * Nombre d'espèces)						empirique
Les paramètres liés à la dynamique de l'infection									
<b>Φ</b>	Matrice de contact	/	1 contacts intraspécifiques; [0,001 à 0,1] contacts interspécifiques, variant selon probabilité de contacts						Littérature
<b>τ</b>	Compétence	/	0.13	0.104 (80% de 0.13)	0				Littérature
Paramètres de dératisation									
<b>dpower</b>	Puissance de dératisation	jour-1	[0-0.16]		0				Cette étude
<b>dpower</b> (toutes les espèces)	Puissance de dératisation lorsqu'elle est appliquée à toutes les espèces	jour-1	[0-0.16]						
<b>dtime</b>	Jour du début de la dératisation	jour	[1,91,181,271]						Cette étude
<b>dduration</b>	Durée de la dératisation (en jour)	jour	30						Cette étude

## Plan de simulation

### Contexte épidémiologique

Sur la base de la littérature (Poitevin & Quéré, 2021), nous avons considéré deux types d'espèces de petits mammifères, les espèces commensales (*Mus musculus*, *Rattus norvegicus* et *Rattus rattus*) et les espèces sauvages (*Apodemus sylvaticus*, *Crocidura russula*, *Sciurus vulgaris*). Nous avons défini trois contextes épidémiologiques urbains selon l'abondance relative de ces catégories de petits mammifères.

**Contexte 1 :** L'abondance relative des espèces commensales et sauvages est équivalente en raison d'une concurrence pour les ressources alimentaires (Samaniego et al., 2020) (ratio = 1)

**Contexte 2 -** Les espèces commensales sont favorisées au détriment des espèces sauvages (ratio > 1). Ce scénario est très probable dans la mesure où les espèces commensales ont un taux de reproduction important et des traits écologiques favorisant leur adaptation aux environnements urbains (Santini et al., 2019).

**Contexte 3-** Les espèces sauvages sont favorisées au profit des espèces commensales, en raison de conditions climatiques relativement stables, de la présence de bâtiments servant d'habitats, de l'absence de prédateurs et d'une abondante alimentation qui n'impose que peu ou pas de limites à leur abondance (Ofori et al., 2018b) (ratio < 1).

Pour modéliser ces trois contextes épidémiologiques, nous avons fait varier l'abondance initiale et la limite d'abondance maximale  $K$  (capacité de charge) des différentes espèces.

### Stratégie de dératisation

Nous avons analysé l'impact de la dératisation sur la circulation de SEOV dans les différents contextes épidémiologiques favorisant ou défavorisant les espèces commensales présentés ci-dessus.

Deux types de stratégie de dératisation ont été appliqués, l'une ciblée sur les rats (piégeage), et l'autre non ciblée impactant toutes les espèces de petits mammifères présentes dans la communauté (méthodes chimiques).

Pour modéliser la dératisation, nous avons modifié le taux de mortalité des différentes espèces sur une période de 30 jours, en choisissant d'appliquer la dératisation avant la période de

reproduction, à l'automne. Nous avons également fait varier l'efficacité de dératisation, en modélisant des augmentations du taux de mortalité plus ou moins forte.

Note : en annexe, nous présentons également les résultats de l'influence de la période d'application de la dératisation (avant, pendant ou après la période principale de reproduction), dans un contexte épidémiologique d'abondance relative équilibrée (ratio=1).

### *Analyses des résultats de simulation*

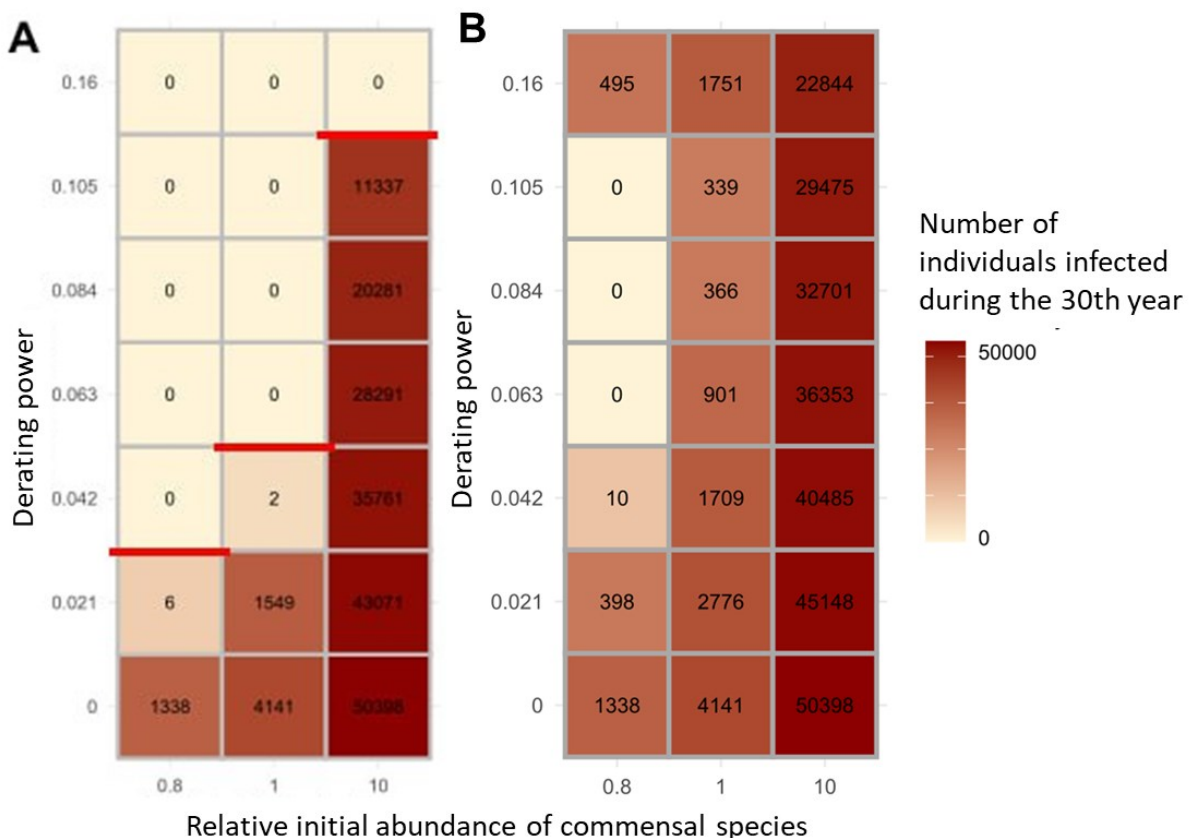
Pour chacune de ces simulations, nous avons analysé la relation entre la prévalence de SEOV et la biodiversité de la communauté de petits mammifères.

Nous avons évalué des métriques de biodiversité de la communauté et d'infection sur une période de dix ans à partir de la 30<sup>ème</sup> année, année minimum pour atteindre l'équilibre démographique des populations. Nous avons utilisé la métrique de Shannon pour quantifier la biodiversité de la communauté et nous avons utilisé soit la prévalence des infectés au moment des pics d'infection chaque année, soit le nombre total d'infectés en une année (la 30<sup>ème</sup> année, équilibre) pour décrire la circulation de SEOV.



Lorsque la dératisation était ciblée sur les rats, la dératisation était toujours efficace, de sorte que le nombre d'infecté atteignait 0. Cependant, ces seuils de puissance de dératisation efficace pour l'éradication de l'infection étaient différents selon le contexte épidémiologique étudié. Plus l'abondance relative initiale des espèces commensales était importante (ratio>1), plus le seuil de dératisation nécessaire à l'éradication était élevé (**Fig. 3A**).

Dans le cas de la dératisation non ciblée, on a observé une ré-augmentation du nombre de rats infectés pour la valeur maximale d'intensité de dératisation testée dans nos simulations (0.16). Ce patron a été détecté pour une faible abondance initiale relative d'espèces commensales (ratio 0.8, **Fig. 3B**). Nous avons observé la même tendance lorsqu'aucune catégorie d'espèce n'était favorisée (ratio=1, **Fig. 3B**). De plus, dans ce cas de dératisation non ciblée, le seuil de dératisation nécessaire pour l'éradication de l'infection était atteint uniquement dans le contexte épidémiologique d'une abondance relative initiale faible des espèces commensales (ratio=0.8, **Fig3B**).



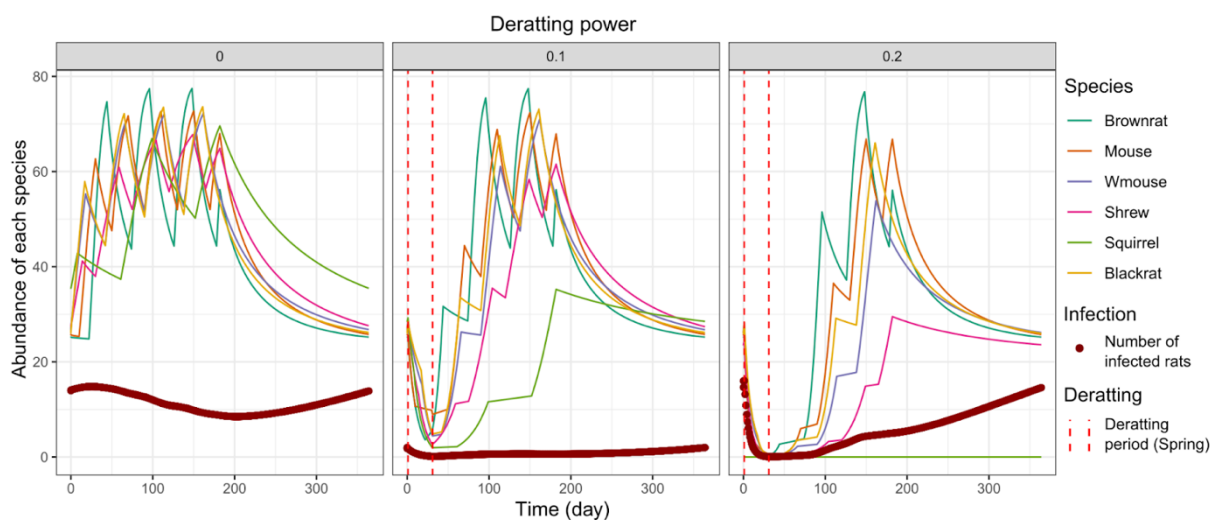
**Fig. 3.** Nombre d'individus infectés au cours de la 30e année selon différents scénarios d'abondance relative initiale des espèces commensales, ainsi que l'efficacité et le type de contrôle des rats. La figure inclut deux types de contrôle des rats : A. Contrôle ciblé des rats. B. Contrôle des rats non ciblé, affectant toutes les espèces de petits mammifères. La flèche rouge indique un seuil de puissance de contrôle des rats efficace pour éradiquer l'infection.



### Impact de la dératisation non ciblée sur les espèces commensales et sauvages

Nous avons voulu comprendre l'impact de la dératisation non ciblée sur les espèces commensales et sauvages. Pour une abondance relative initiale équivalente (ratio=1), nous avons constaté qu'une dératisation non ciblée entraînait une diminution de l'abondance de toutes les espèces pendant la période de dératisation. Après cette période, la croissance de l'abondance des différentes espèces était variable, avec des augmentations plus ou moins rapides et marquées au fil du temps (**Fig. 4**). Cette diminution de l'abondance s'accompagnait d'une perte du nombre d'infectés, indiquant un succès de la dératisation.

Cependant, une forte intensité de dératisation non ciblée conduisait à un rétablissement plus lent de l'abondance pour toutes les espèces. Cette reprise était moins rapide et moins prononcée, et certaines espèces non commensales (écureuils, mulots et musaraignes) n'ont pas pu se rétablir complètement, ce qui pouvait même aboutir à leur disparition (ex des écureuils). Ceci se traduit par une diminution de la richesse spécifique et d'une augmentation du nombre d'individus infectés, indiquant une perte d'effet de dilution (**Fig. 4**).



**Fig. 4** Dynamique des populations de petits mammifères et nombre d'individus de rongeurs infectés au cours de la 30e année avec la dératisation non ciblée, en fonction de trois niveaux distincts d'efficacité de dératisation : 0 (absence de dératisation), 0.1 et 0.2. Ceci s'inscrit dans un contexte d'équilibre entre espèces commensales et sauvages (ratio=1).

## D. Discussion

### *Le rôle central de l'abondance de l'hôte compétent dans la relation biodiversité-prévalence*

Nous avons constitué différents contextes épidémiologiques sur la base de l'abondance relative des espèces commensales et nous avons évalué la relation entre prévalence de SEOV et biodiversité de la communauté de petits mammifères dans ces contextes.

Les résultats ont montré une diminution générale de la prévalence de SEOV en réponse à l'augmentation de la biodiversité, reflétant un effet dilution. Cela corrobore les nombreuses études empiriques, où l'effet dilution était observé pour les systèmes *hantavirus*-rongeurs (**encadré 1**, exemples Khalil et al., 2016; Ruedas et al., 2004; Tersago et al., 2008; Voutilainen et al., 2015).

La diminution de l'abondance des espèces commensales telles que les espèces du genre *Rattus* et *Mus musculus*, s'accompagne d'une augmentation de la diversité. Étant donné que les rats sont également les seules espèces compétentes au virus SEOV, autrement dit qu'ils ont une plus grande sensibilité et capacité à limiter la réplication et la transmission de ces derniers (Huang et al., 2016), une réduction de l'abondance relative des espèces commensales crée un contexte où l'abondance relative des espèces compétentes est inéluctablement réduite. Dans ce contexte, il devient plus probable qu'un effet de dilution se produise, surtout si des variations de compétence entre les espèces hôtes existent et si l'augmentation de la diversité s'accompagne d'une diminution de l'abondance des espèces compétentes (Johnson et al., 2015).

Lorsque les espèces non commensales deviennent prédominantes ( $\text{Ratio} < 1$ ), alors la prévalence du virus SEOV devient nulle. L'abondance des espèces compétentes est insuffisante pour soutenir la persistance du virus au sein de la population. Par conséquent, prendre en compte la composition des communautés hôtes, en particulier en ce qui concerne le rapport entre les espèces compétentes et non compétentes, lié à l'effet de dilution, s'avère plus crucial que la biodiversité en tant que telle pour les enjeux sanitaires (Gibb et al., 2020; Halliday et al., 2020). De telles observations revêtent une importance significative, notamment lorsque les rats, espèces invasives, sont introduites en faible nombre dans de nouvelles zones géographiques, telles que les ports (par exemple, le port de Cotonou, Castel et al., 2021) ou les îles (Shiels et al., 2014). Dans de telles circonstances, l'enjeu en matière de santé publique réside dans la nécessité de contrôler rapidement l'abondance des rats, afin de maintenir une

probabilité minimale de circulation du virus SEOV. Une des seules études de terrain impliquant le système rats-SEOV n'a pas montré de lien entre l'abondance relative des rats et la prévalence du virus chez les rats. Cependant, cette étude n'a pas pris en compte la biodiversité des petits mammifères, ni l'abondance des espèces non compétentes (Raharinosy et al., 2018).

#### *Les mécanismes potentiels sous-jacents à la relation entre prévalence et biodiversité*

Nous avons observé que la diminution de l'abondance relative des hôtes commensaux entraînait une augmentation de biodiversité au sein des communautés de petits mammifères et une diminution de la prévalence. *In natura*, ce phénomène peut se produire ("régulation de l'hôte sensible"). Il a été observé dans des études empiriques antérieures (Yates et al., 2002) et peut être expliqué par des interactions écologiques inter-spécifiques telles que la prédation et la compétition (Khalil et al., 2016).

Un tel phénomène, et le lien entre abondance relative des rats et biodiversité dans une communauté de petits mammifères, n'a à notre connaissance pas été décrit. Une récente analyse met même en évidence la tendance opposée, l'abondance des rats pouvant être associée positivement avec des zones de verdure urbaine ou des parcs urbains (de Cock et al., 2023), zones hébergeant souvent une grande diversité, comme retrouvé dans nos données empiriques ou plus généralement dans la littérature (Mendoza et al., 2019; Ofori et al., 2018b). Le scénario le plus probable est une prédominance des espèces commensales. Bien qu'un effet de régulation par les espèces non commensales soit envisageable, sa contribution pourrait être restreinte. De plus, les espèces commensales pourraient se superposer aux autres espèces non commensales de manière additive plutôt que substitutive, grâce à une compétition réduite (Rohr et al., 2020). Cette tendance est fréquemment observée dans les environnements urbains qui agissent comme des réserves de nourriture abondante (Ofori et al., 2018). En outre, les rats occupent fréquemment la position d'espèces dominantes en raison de leur taille imposante et de leur comportement agressif (Salgado et al., 2022). Cette compétition est finalement peu fréquente pour *Rattus norvegicus* et *Rattus rattus*, principalement en raison de leur suprématie dans les égouts et une vie nocturne respectivement. Cela facilite ainsi une ségrégation des niches écologiques par rapport aux autres espèces (Guo et al., 2022; Miljutin & Lehtonen, 2008; Salgado et al., 2022).

Un autre processus, nommé "réduction des rencontres", pourrait expliquer la relation négative observée entre prévalence de SEOV et biodiversité. Ce phénomène a été constaté dans des

recherches empiriques (**encadré 1**, Carver et al., 2011; Keesing et al., 2006; Khalil et al., 2014). Il peut être expliqué par une diminution du nombre de contacts intra-spécifiques, et par conséquent, de la transmission du virus entre les rats, en réponse à l'augmentation de la biodiversité (Keesing et al., 2010; Ostfeld & Keesing, 2012). Les interactions surviennent fréquemment dans les espaces communs lors de la quête de nourriture ou lors des déplacements (Sih et al., 2018; Spiegel et al., 2015). D'un point de vue pratique, il serait pertinent d'explorer de manière directe les déplacements des rats (Sih et al., 2018), en mettant l'accent sur leurs interactions avec leurs congénères ainsi qu'avec d'autres espèces non compétentes, dans des environnements présentant des niveaux de biodiversité variés. D'un point de vue théorique, nous pourrions évaluer directement les différences de taux de transmission et d'abondance de la population de rats en manipulant les taux de contacts intra-spécifiques et inter-spécifiques. Il est possible que ces deux mécanismes puissent opérer simultanément, avec des contributions différentes. Cette coexistence des mécanismes a été observée dans l'étude épidémiologique de Roche et al. (2012), où les interactions écologiques entre les espèces hôtes semblaient avoir une influence moindre sur la propagation des agents pathogènes par rapport aux taux de transmission inter-espèces.

### *La dératisation, une méthode gagnant-gagnant acceptable ?*

La dératisation ciblée s'est avérée efficace en réduisant l'abondance des rats, ce qui a limité la transmission de SEOV, directement par des mécanismes densité dépendant et indirectement par l'augmentation de la biodiversité et la mise en place possible de l'effet dilution. Plus l'abondance relative initiale des hôtes compétents est élevée, plus le seuil de dératisation nécessaire pour éradiquer l'infection devait également être augmenté.

Comme le recommandent Miguel et al. (Miguel et al., 2020), l'utilisation d'une méthode d'abattage ciblée sur l'hôte le plus compétent est préférable. Cependant, bien que cette méthode puisse être efficace contre SEOV, elle pourrait entraîner une diminution de la biodiversité et des modifications de la composition de la communauté de petits mammifères (**Fig.1**). Ces changements pourraient avoir des effets néfastes sur la circulation d'autres pathogènes, dont les hôtes compétents ne sont pas des rats, en augmentant par exemple leur transmission (**Partie 1- étude empirique**). Il serait judicieux de développer cette approche de modélisation en incluant les différentes espèces de pathogènes détectées dans la communauté

de petits mammifères du parc de la Tête d'Or. Ceci permettrait d'étudier le taux de dératisation optimal permettant la régulation ou l'éradication de SEOV sans conséquences notables pour les autres infections.

Dans le contexte de la dératisation non ciblée (Fig. 3B), couramment utilisée dans les méthodes de dératisation (Witmer, 2019), plusieurs scénarios se présentent. Premièrement, une faible pression de dératisation peut contribuer à réduire l'abondance de toutes les espèces, y compris les rats, ce qui diminue également la prévalence de SEOV. Cette méthode 'gagnant-gagnant' semble efficace uniquement lorsque l'abondance relative initiale des espèces commensales (et donc des rats) est faible. Deuxièmement, une forte pression de dératisation peut affecter la biodiversité à tel point que seules les espèces commensales résistent à cette perturbation, ce qui renforce la circulation de SEOV. De plus, l'abondance des espèces commensales a été complètement rétablie après un certain laps de temps. En revanche, les espèces non commensales (écureuils, mulots et musaraignes) n'ont pas réussi à récupérer pleinement, et leur taux de récupération a été d'autant plus prolongé que l'intensité de la dératisation était élevée, conduisant à la disparition de certaines d'entre elles. Cette situation favorise une transmission accrue du virus SEOV entre les rats, compensant ainsi la réduction de la transmission due à la dératisation. Cette méthode est donc à proscrire.

Les espèces commensales et compétentes sont généralement plus à même de persister dans des écosystèmes de faible diversité et perturbés. Cela s'explique notamment par des traits caractéristiques leur permettant une plus grande résistance et tolérance aux perturbations (Gibb et al., 2020; Johnson et al., 2020). Ainsi une stratégie non ciblée est d'autant plus nocive qu'elle va provoquer des dommages importants sur les espèces non cibles et la biodiversité, et finalement avoir un impact uniquement à court terme sur les espèces à contrôler comme les rats.

L'utilisation de techniques de contrôle non ciblées et la difficulté d'atteindre des seuils de dératisation élevés pourraient expliquer l'inefficacité de nombreuses campagnes de dératisation (Keitt et al., 2015). Cela souligne l'importance du choix de nouvelles méthodes de dératisation (Campbell et al., 2015).

Nous préconisons une compréhension du système hôtes-pathogènes, leur communauté, et leur dynamique dans le temps et l'espace avant de procéder à la gestion d'une population.

Nous pourrions également inclure d'autres approches de gestion plus "naturelles", telles que celles suggérées par Arnal et *al.* (en révision) Cela pourrait impliquer l'introduction de prédateurs ou d'espèces clés de voûte pour réduire l'abondance relative des espèces compétentes, ainsi que la création de corridors et de réserves pour maintenir des niveaux de diversité élevés (Hopkins et al., 2022; Roche, Benbow, et al., 2013) .

### *Conclusion*

Le modèle proposé dans cette étude présente différentes limitations liées à l'estimation des paramètres, car nous manquons de données empiriques sur les espèces de petits mammifères, notamment en milieu urbain. Parmi ces limitations, un manque majeur concerne l'estimation des contacts entre individus. Cette estimation a été faite de façon grossière, notamment du fait de l'absence d'informations sur les mouvements individuels, et la quantification des contacts est plus complexe que ce qui est proposé ici (Sih et al., 2018). De plus, certains paramètres, tels que la susceptibilité des petits mammifères à SEOV, sont établis sur la base de données connexes, telles que la prévalence maximale observée dans les études, ce qui ne reflète pas la complexité réelle de la susceptibilité d'un hôte (Merrill & Johnson, 2020).

De plus, il reste nécessaire d'intégrer les aspects de spatialisation dans ces modèles, afin de les rendre plus réalistes en tenant compte des processus de migration et d'extinction/colonisation entre méta communautés (par exemple Chen et al., 2020; Wilber et al., 2020). Ainsi, la réintroduction d'agents pathogènes peut provenir de zones voisines (ex de quartiers urbains ou de forêts, connectés aux parcs urbains considérés dans notre modèle) grâce aux mouvements d'individus (Tennant et al., 2021). En outre, l'efficacité de l'élimination d'une population dépend de la capacité des individus à réinvestir cet environnement (Miguel et al., 2020).

Enfin, il serait intéressant d'utiliser des modèles multi-pathogènes pour tenir compte des co-infections possibles (par exemple, Alizon, 2013; Mekonen & Obsu, 2022) et pour mieux définir les stratégies optimales de contrôle. Cela permettrait d'éviter que des campagnes de gestion des populations qui réduisent la circulation d'un pathogène favorisent involontairement d'autres, en raison des différences de relations spécifiques entre les espèces hôtes compétentes et les pathogènes (Becker et al., 2020) .

## E. References

- Alizon, S. (2013). Co-infection and super-infection models in evolutionary epidemiology. *Interface Focus*, 3(6). <https://doi.org/10.1098/RSFS.2013.0031>
- Bacaër, N. (2011). Verhulst and the logistic equation (1838). *A Short History of Mathematical Population Dynamics*, 35–39. [https://doi.org/10.1007/978-0-85729-115-8\\_6](https://doi.org/10.1007/978-0-85729-115-8_6)
- Becker, D. J., Seifert, S. N., & Carlson, C. J. (2020). Beyond Infection: Integrating Competence into Reservoir Host Prediction. *Trends in Ecology and Evolution*, 35(12), 1062–1065. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2020.08.014>
- Bolzoni, L., & De Leo, G. A. (2013). Unexpected Consequences of Culling on the Eradication of Wildlife Diseases: The Role of Virulence Evolution. <https://doi.org/10.1086/669154>, 181(3), 301–313. <https://doi.org/10.1086/669154>
- Byers, K. A., Lee, M. J., Patrick, D. M., & Himsforth, C. G. (2019). Rats about town: A systematic review of rat movement in urban ecosystems. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 7(JAN), 422623. <https://doi.org/10.3389/FEVO.2019.00013/BIBTEX>
- Campbell, K. J., Beek, J., Eason, C. T., Glen, A. S., Godwin, J., Gould, F., Holmes, N. D., Howald, G. R., Madden, F. M., Ponder, J. B., Threadgill, D. W., Wegmann, A. S., & Baxter, G. S. (2015). The next generation of rodent eradications: Innovative technologies and tools to improve species specificity and increase their feasibility on islands. *Biological Conservation*, 185, 47–58. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCON.2014.10.016>
- Carver, S., Kuenzi, A., Bagamian, K. H., Mills, J. N., Rollin, P. E., Zanto, S. N., & Douglass, R. (2011). A temporal dilution effect: Hantavirus infection in deer mice and the intermittent presence of voles in Montana. *Oecologia*. <https://doi.org/10.1007/s00442-010-1882-z>
- Castel, Kant, Badou, Etougbetche, Dossou, Gauthier, Philippe, Houemenou, Smura, Sironen, & Dobigny. (2021). *Genetic characterization of Seoul virus in the seaport of Cotonou, Benin*. <https://doi.org/10.3201/eid2710.210268>
- Chen, S., Owolabi, Y., Li, A., Lo, E., Robinson, P., Janies, D., Lee, C., & Dulin, M. (2020). Patch dynamics modeling framework from pathogens' perspective: Unified and standardized approach for complicated epidemic systems. *PLOS ONE*, 15(10), e0238186. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0238186>

- Clay, C. A., Lehmer, E. M., Jeur, S. S., & Dearing, M. D. (2009). Testing mechanisms of the dilution effect: Deer mice encounter rates, sin nombre virus prevalence and species diversity. *EcoHealth*, 6(2), 250–259. <https://doi.org/10.1007/s10393-009-0240-2>
- Clement, J., Leduc, J. W., McElhinney, L. M., Reynes, J. M., Van Ranst, M., & Calisher, C. H. (2019). Clinical Characteristics of Ratborne Seoul Hantavirus Disease. *Emerging Infectious Diseases*, 25(2), 387. <https://doi.org/10.3201/EID2502.181643>
- de Cock, M. P., de Vries, A., Fonville, M., Esser, H. J., Mehl, C., Ulrich, R. G., Joeres, M., Hoffmann, D., Eisenberg, T., Schmidt, K., Hulst, M., van der Poel, W. H. M., Sprong, H., & Maas, M. (2023). Increased rat-borne zoonotic disease hazard in greener urban areas. *Science of The Total Environment*, 896, 165069. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2023.165069>
- Dearing, M. D., Clay, C., Lehmer, E., & Dizney, L. (2015). The roles of community diversity and contact rates on pathogen prevalence. *Journal of Mammalogy*, 96(1), 29–36. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyu025>
- Donnelly, C. A., & Woodroffe, R. (2012). Reduce uncertainty in UK badger culling. *Nature* 2012 485:7400, 485(7400), 582–582. <https://doi.org/10.1038/485582a>
- Donnelly, C. A., Woodroffe, R., Cox, D. R., Bourne, F. J., Cheeseman, C. L., Clifton-Hadley, R. S., Wei, G., Gettinby, G., Gilks, P., Jenkins, H., Johnston, W. T., Le Fevre, A. M., McInerney, J. P., & Morrison, W. I. (2005). Positive and negative effects of widespread badger culling on tuberculosis in cattle. *Nature* 2005 439:7078, 439(7078), 843–846. <https://doi.org/10.1038/nature04454>
- Gibb, R., Redding, D. W., Chin, K. Q., Donnelly, C. A., Blackburn, T. M., Newbold, T., & Jones, K. E. (2020). Zoonotic host diversity increases in human-dominated ecosystems. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2562-8>
- Guo, W. P., Lin, X. D., Wang, W., Tian, J. H., Cong, M. L., Zhang, H. L., Wang, M. R., Zhou, R. H., Wang, J. B., Li, M. H., Xu, J., Holmes, E. C., & Zhang, Y. Z. (2013). Phylogeny and Origins of Hantaviruses Harbored by Bats, Insectivores, and Rodents. *PLoS Pathogens*, 9(2). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003159>
- Guo, X., Lee, M. J., Byers, K. A., Helms, L., Weinberger, K. R., & Himsforth, C. G. (2022). Characteristics of the urban sewer system and rat presence in Seattle. *Urban Ecosystems*,



25(6), 1699–1709. <https://doi.org/10.1007/S11252-022-01255-2/METRICS>

Halliday, F. W., Rohr, J. R., & Laine, A.-L. (2020). Biodiversity loss underlies the dilution effect of biodiversity. *BioRxiv Ecology*, 2020.04.20.050377. <https://doi.org/10.1101/2020.04.20.050377>

Hopkins, S. R., Lafferty, K. D., Wood, C. L., Olson, S. H., Buck, J. C., De Leo, G. A., Fiorella, K. J., Fornberg, J. L., Garchitorena, A., Jones, I. J., Kuris, A. M., Kwong, L. H., LeBoa, C., Leon, A. E., Lund, A. J., MacDonald, A. J., Metz, D. C. G., Nova, N., Peel, A. J., ... Sokolow, S. H. (2022). Evidence gaps and diversity among potential win–win solutions for conservation and human infectious disease control. *The Lancet Planetary Health*, 6(8), e694–e705. [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(22\)00148-6/ATTACHMENT/D62083CA-BB9D-41AB-BE52-586ECCFC0985/MMC1.PDF](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(22)00148-6/ATTACHMENT/D62083CA-BB9D-41AB-BE52-586ECCFC0985/MMC1.PDF)

Hopkins, S. R., Sokolow, S. H., Buck, J. C., De Leo, G. A., Jones, I. J., Kwong, L. H., LeBoa, C., Lund, A. J., MacDonald, A. J., Nova, N., Olson, S. H., Peel, A. J., Wood, C. L., & Lafferty, K. D. (2021). How to identify win–win interventions that benefit human health and conservation. *Nature Sustainability*, 4(4), 298–304. <https://doi.org/10.1038/s41893-020-00640-z>

Huang, Z. Y. X., LANGEVELDE, F. VAN, ESTRADA-PEÑA, A., SUZÁN, G., & BOER, W. F. DE. (2016). The diversity–disease relationship: evidence for and criticisms of the dilution effect. *Parasitology*, 143(9), 1075–1086. <https://doi.org/10.1017/S0031182016000536>

Hussein, A., Teemu, S., Marie, B., Julien, P., Gwendoline, A., Karine, B., Lara, D., Anne, L., Thanakorn, N., Viktor, O., Diana, S., Vinaya, V., Nathalie, C., Guillaume, C., Tarja, S., & Alburkat Hussein, F. (2023). Evolution and Genetic Characterization of Seoul Virus in Wild Rats *Rattus Norvegicus* from an urban park in Lyon, France 2020-2022. *BioRxiv*, 2023.04.12.536564. <https://doi.org/10.1101/2023.04.12.536564>

Johnson, C. K., Hitchens, P. L., Pandit, P. S., Rushmore, J., Evans, T. S., Young, C. C. W., & Doyle, M. M. (2020). Global shifts in mammalian population trends reveal key predictors of virus spillover risk. *Proceedings of the Royal Society B*, 287(1924). <https://doi.org/10.1098/RSPB.2019.2736>

Johnson, P. T. J., Ostfeld, R. S., & Keesing, F. (2015). Frontiers in research on biodiversity and disease. *Ecology Letters*, 18(10), 1119–1133. <https://doi.org/10.1111/ELE.12479>

- Jones, K. E., Bielby, J., Cardillo, M., Fritz, S. A., O'dell, J., David, C., Orme, L., Safi, K., Sechrest, W., Boakes, E. H., Carbone, C., Connolly, C., Cutts, M. J., Foster, J. K., Grenyer, R., Habib, M., Plaster, C. A., Price, S. A., Rigby, E. A., ... Purvis, A. (2009). PanTHERIA: a species-level database of life history, ecology, and geography of extant and recently extinct mammals. *Ecology*, *90*(9), 2648–2648. <https://doi.org/10.1890/08-1494.1>
- Keesing, F., Holt, R. D., & Ostfeld, R. S. (2006). Effects of species diversity on disease risk. In *Ecology Letters* (Vol. 9, Issue 4, pp. 485–498). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.00885.x>
- Keesing, Felicia, Belden, L. K., Daszak, P., Dobson, A., Harvell, C. D., Holt, R. D., Hudson, P., Jolles, A., Jones, K. E., Mitchell, C. E., Myers, S. S., Bogich, T., & Ostfeld, R. S. (2010). Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases. *Nature*, *468*(7324), 647–652. <https://doi.org/10.1038/nature09575>
- Keitt, B., Griffiths, R., Boudjelas, S., Broome, K., Cranwell, S., Millett, J., Pitt, W., & Samaniego-Herrera, A. (2015). Best practice guidelines for rat eradication on tropical islands. *Biological Conservation*, *185*, 17–26. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCON.2014.10.014>
- Khalil, H., Ecke, F., Evander, M., Magnusson, M., & Hörnfeldt, B. (2016). Declining ecosystem health and the dilution effect. *Scientific Reports*, *6*(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/srep31314>
- Khalil, H., Hörnfeldt, B., Evander, M., Magnusson, M., Olsson, G., & Ecke, F. (2014). Dynamics and Drivers of Hantavirus Prevalence in Rodent Populations. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, *14*(8), 537–551. <https://doi.org/10.1089/vbz.2013.1562>
- Lee, M. J., Byers, K. A., Donovan, C. M., Bidulka, J. J., Stephen, C., Patrick, D. M., & Himsworth, C. G. (2018). Effects of Culling on *Leptospira interrogans* Carriage by Rats - Volume 24, Number 2—February 2018 - Emerging Infectious Diseases journal - CDC. *Emerging Infectious Diseases*, *24*(2), 356–360. <https://doi.org/10.3201/EID2402.171371>
- Luis, A. D., Kuenzi, A. J., & Mills, J. N. (2018). Species diversity concurrently dilutes and amplifies transmission in a zoonotic host–pathogen system through competing mechanisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *115*(31), 7979–7984. <https://doi.org/10.1073/pnas.1807106115>

- Mekonen, K. G., & Obsu, L. L. (2022). Mathematical modeling and analysis for the co-infection of COVID-19 and tuberculosis. *Heliyon*, 8(10), e11195. <https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2022.E11195>
- Mendoza, H., Rubio, A. V., García-Peña, G. E., Suzán, G., & Simonetti, J. A. (2019). Does land-use change increase the abundance of zoonotic reservoirs? Rodents say yes. *European Journal of Wildlife Research* 2019 66:1, 66(1), 1–5. <https://doi.org/10.1007/S10344-019-1344-9>
- Merrill, T. E. S., & Johnson, P. T. J. (2020). Towards a mechanistic understanding of competence: a missing link in diversity–disease research. *Parasitology*, 147(11), 1159–1170. <https://doi.org/10.1017/S0031182020000943>
- Miguel, E., Grosbois, V., Caron, A., Pople, D., Roche, B., & Donnelly, C. A. (2020). A systemic approach to assess the potential and risks of wildlife culling for infectious disease control. *Communications Biology* 2020 3:1, 3(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-1032-z>
- Miljutin, A., & Lehtonen, J. T. (2008). Probability of competition between introduced and native rodents in Madagascar: an estimation based on morphological traits/sissetoodud ja aborigeensete nariliste vahelise konkurentsiti toenaolisus Madagaskaril: morfoloogilistel tunnustel pohinev hinnang. *Estonian Journal of Ecology*, 57(2), 133–153. <https://go.gale.com/ps/i.do?p=AONE&sw=w&issn=1736602X&v=2.1&it=r&id=GALE%7CA199194789&sid=googleScholar&linkaccess=fulltext>
- Murphy, E. G., Williams, N. J., Bennett, M., Jennings, D., Chantrey, J., & McElhinney, L. M. (2019). Detection of Seoul virus in wild brown rats (*Rattus norvegicus*) from pig farms in Northern England. *The Veterinary Record*, 184(17), 525. <https://doi.org/10.1136/VR.105249>
- Ofori, B. Y., Garshong, R. A., Gbogbo, F., Owusu, E. H., & Attuquayefio, D. K. (2018). Urban green area provides refuge for native small mammal biodiversity in a rapidly expanding city in Ghana. *Environmental Monitoring and Assessment*, 190(8). <https://doi.org/10.1007/S10661-018-6858-1>
- Ostfeld, R. S., & Keesing, F. (2012). Effects of Host Diversity on Infectious Disease. *Annual*

*Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 43(1), 157–182.  
<https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-102710-145022>

Padula, P., Figueroa, R., Navarrete, M., Pizarro, E., Cadiz, R., Bellomo, C., Jofre, C., Zaror, L., Rodriguez, E., & Murúa, R. (2004). Transmission Study of Andes Hantavirus Infection in Wild Sigmodontine Rodents. *Journal of Virology*, 78(21), 11972–11979.  
<https://doi.org/10.1128/jvi.78.21.11972-11979.2004>

Parsons, M. H., Sarno, R. J., & Deutsch, M. A. (2015). Jump-starting urban rat research: Conspecific pheromones recruit wild rats into a behavioral and pathogen-monitoring assay. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 3(DEC), 166172.  
<https://doi.org/10.3389/FEVO.2015.00146/BIBTEX>

Plourde, B. T., Burgess, T. L., Eskew, E. A., Roth, T. M., Stephenson, N., & Foley, J. E. (2017). Are disease reservoirs special? Taxonomic and life history characteristics. *PLOS ONE*, 12(7), e0180716. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0180716>

Poitevin, F., & Quéré, J.-P. (1947-. . . ). (2021). *Insectivores et rongeurs du Sud de la France*. <https://www.worldcat.org/title/1260451817>

Quéré, J.-P., & Louarn, H. Le. (2011). *Les rongeurs de France. Faunistique et biologie*. Editions Quae. <https://hal.inrae.fr/hal-02810235>

Raharinosy, V., Olive, M. M., Andriamiarimanana, F. M., Andriamandimby, S. F., Ravalohery, J. P., Andriamamonjy, S., Filippone, C., Rakoto, D. A. D., Telfer, S., & Heraud, J. M. (2018). Geographical distribution and relative risk of Anjozorobe virus (Thailand orthohantavirus) infection in black rats (*Rattus rattus*) in Madagascar. *Virology Journal*, 15(1), 1–11.  
<https://doi.org/10.1186/S12985-018-0992-9/TABLES/3>

Roche, B., Dobson, A. P., Guégan, J. F., & Rohani, P. (2012). Linking community and disease ecology: The impact of biodiversity on pathogen transmission. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 367(1604), 2807–2813.  
<https://doi.org/10.1098/rstb.2011.0364>

Roche, B., Eric Benbow, M., Merritt, R., Kimbirauskas, R., McIntosh, M., Small, P. L. C., Williamson, H., & Guégan, J. F. (2013). Identifying the Achilles' heel of multi-host pathogens: The concept of keystone “host” species illustrated by *Mycobacterium ulcerans*

- transmission. *Environmental Research Letters: ERL [Web Site]*, 8(4), 045009. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/8/4/045009>
- Roche, B., Rohani, P., Dobson, A. P., & Guégan, J.-F. (2013). The Impact of Community Organization on Vector-Borne Pathogens. *The American Naturalist*, 181(1), 1–11. <https://doi.org/10.1086/668591>
- Rohr, J. R., Civitello, D. J., Halliday, F. W., Hudson, P. J., Lafferty, K. D., Wood, C. L., & Mordecai, E. A. (2020). Towards common ground in the biodiversity–disease debate. *Nature Ecology and Evolution*, 4(1), 24–33. <https://doi.org/10.1038/s41559-019-1060-6>
- Ruedas, L. A., Salazar-Bravo, J., Tinnin, D. S., Armién, B., Cáceres, L., García, A., Díaz, M. A., Gracia, F., Suzán, G., Peters, C. J., Yates, T. L., & Mills, J. N. (2004). Community ecology of small mammal populations in Panamá following an outbreak of Hantavirus pulmonary syndrome. *Journal of Vector Ecology: Journal of the Society for Vector Ecology*, 29(1), 177–191. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15266755>
- Salgado, R., Barja, I., Hernández, M. del C., Lucero, B., Castro-Arellano, I., Bonacic, C., & Rubio, A. V. (2022). Activity patterns and interactions of rodents in an assemblage composed by native species and the introduced black rat: implications for pathogen transmission. *BMC Zoology*, 7(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/S40850-022-00152-7/TABLES/6>
- Samaniego, A., Griffiths, R., Gronwald, M., Holmes, N. D., Opper, S., Stevenson, B. C., & Russell, J. C. (2020). Risks posed by rat reproduction and diet to eradications on tropical islands. *Biological Invasions*, 22(4), 1365–1378. <https://doi.org/10.1007/S10530-019-02188-2/METRICS>
- Sanchez, A. J., Abbott, K. D., & Nichol, S. T. (2001). Genetic identification and characterization of limestone canyon virus, a unique Peromyscus-borne hantavirus. *Virology*, 286(2), 345–353. <https://doi.org/10.1006/viro.2001.0983>
- Santini, L., González-Suárez, M., Russo, D., Gonzalez-Voyer, A., von Hardenberg, A., & Ancillotto, L. (2019). One strategy does not fit all: determinants of urban adaptation in mammals. *Ecology Letters*, 22(2), 365–376. <https://doi.org/10.1111/ELE.13199>
- Schmaljohn, C., & Hjelle, B. (1997). Hantaviruses: A Global Disease Problem. *Emerging Infectious Diseases*, 3(2), 95–104. <https://doi.org/10.3201/eid0302.970202>

- Shiels, A. B., Pitt, W. C., Sugihara, R. T., & Witmer, G. W. (2014). *Biology and Impacts of Pacific Island Invasive Species. 11. Rattus Biology and Impacts of Pacific Island Invasive Species. 11. Rattus rattus, the Black Rat (Rodentia: Muridae) rattus, the Black Rat (Rodentia: Muridae)*. <https://doi.org/10.2984/68.2.1>
- Sih, A., Spiegel, O., Godfrey, S., Leu, S., & Bull, C. M. (2018). Integrating social networks, animal personalities, movement ecology and parasites: a framework with examples from a lizard. *Animal Behaviour*, *136*, 195–205. <https://doi.org/10.1016/J.ANBEHAV.2017.09.008>
- Spiegel, O., Leu, S. T., Sih, A., Godfrey, S. S., & Bull, C. M. (2015). When the going gets tough: behavioural type-dependent space use in the sleepy lizard changes as the season dries. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *282*(1819). <https://doi.org/10.1098/RSPB.2015.1768>
- Suzán, G., Marcé, E., Giermakowski, J. T., Mills, J. N., Ceballos, G., Ostfeld, R. S., Armién, B., Pascale, J. M., & Yates, T. L. (2009). Experimental evidence for reduced rodent diversity causing increased hantavirus prevalence. *PLoS ONE*, *4*(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005461>
- Tennant, W. S. D., Cardinale, E., Cêtre-Sossah, C., Moutroifi, Y., Le Godais, G., Colombi, D., Spencer, S. E. F., Tildesley, M. J., Keeling, M. J., Charafouddine, O., Colizza, V., Edmunds, W. J., & Métras, R. (2021). Modelling the persistence and control of Rift Valley fever virus in a spatially heterogeneous landscape. *Nature Communications* *2021 12:1*, *12*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25833-8>
- Tersago, K., Schreurs, A., Linard, C., Verhagen, R., Van Dongen, S., & Leirs, H. (2008). Population, environmental, and community effects on local bank vole (*Myodes glareolus*) Puumala virus infection in an area with low human incidence. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, *8*(2), 235–244. <https://doi.org/10.1089/vbz.2007.0160>
- Voutilainen, L., Sironen, T., Tonteri, E., Bäck, A. T., Razzauti, M., Karlsson, M., Wahlström, M., Niemimaa, J., Henttonen, H., & Lundkvist, Å. (2015). Life-long shedding of Puumala hantavirus in wild bank voles (*Myodes glareolus*). *Journal of General Virology*, *96*(6), 1238–1247. <https://doi.org/10.1099/vir.0.000076>
- Wilber, M. Q., Johnson, P. T. J., & Briggs, C. J. (2020). Disease hotspots or hot species? *Infection*

dynamics in multi-host metacommunities controlled by species identity, not source location. *Ecology Letters*, 23(8), 1201. <https://doi.org/10.1111/ELE.13518>

Witmer, G. (2019). *The changing role of rodenticides and their alternatives in the management of commensal rodents*. [https://digitalcommons.unl.edu/icwdm\\_usdanwrc](https://digitalcommons.unl.edu/icwdm_usdanwrc)

Yates, T. L., Mills, J. N., Parmenter, C. A., Ksiazek, T. G., Parmenter, R. R., Vande Castle, J. R., Calisher, C. H., Nichol, S. T., Abbott, K. D., Young, J. C., Morrison, M. L., Beaty, B. J., Dunnum, J. L., Baker, R. J., Salazar-Bravo, J., & Peters, C. J. (2002). The Ecology and Evolutionary History of an Emergent Disease: Hantavirus Pulmonary Syndrome Evidence from two El Niño episodes in the American Southwest suggests that El Niño-driven precipitation, the initial catalyst of a trophic cascade that results in a delayed density-dependent rodent response, is sufficient to predict heightened risk for human contraction of hantavirus pulmonary syndrome. *BioScience*, 52(11), 989–998. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2002\)052\[0989:teaeho\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2002)052[0989:teaeho]2.0.co;2)

#### IV. Conclusions générales

En combinant des approches empiriques et théoriques, nous approfondissons notre compréhension des interactions complexes entre biodiversité animale et maladies zoonotiques. En explorant ces interactions et les mécanismes sous-jacents dans divers contextes épidémiologiques, nous pouvons proposer aux acteurs de l'environnement et de la santé des connaissances pour mieux gérer la biodiversité tout en réduisant les dangers associés aux agents de zoonoses (Hopkins et al., 2021).

Nos recherches montrent le rôle majeur de l'abondance des hôtes (les plus) compétents sur la biodiversité et sur la prévalence des pathogènes. Ce résultat est d'autant plus crucial que ces hôtes compétents sont souvent les plus résistants ou résilients aux perturbations (Gibb et al., 2020; Johnson et al., 2020a). Or la faune sauvage est fortement soumise aux perturbations, qu'elles soient dues à des facteurs naturels tels que les cycles saisonniers et annuels, à des pressions anthropiques telles que l'urbanisation, l'utilisation des terres ou la gestion des populations comme la dératisation non ciblée, qui vont altérer la structure des communautés animales, modifier l'abondance des hôtes compétents et potentiellement briser les mécanismes naturels de régulation du danger zoonotique tels que ceux à l'origine de l'effet

dilution. Il reste donc crucial d'étudier l'impact de ces perturbations sur les relations biodiversité/zoonoses afin d'améliorer la prévention des maladies émergentes.

Enfin, l'analyse conjointe de plusieurs pathogènes dans l'étude des relations biodiversité/zoonoses a montré la diversité de patrons possibles pour un même système écologique (ici une communauté de petits mammifères le long d'un gradient d'anthropisation forestière). L'étude de systèmes complets incluant le suivi de l'ensemble des hôtes et pathogènes présents est indispensable pour établir une connaissance globale des risques zoonotiques dans l'ensemble de la communauté, et prédire l'évolution de ces risques en réponse aux perturbations possibles de l'écosystème. En particulier, avant de mettre en œuvre des mesures de gestion des populations d'espèces sauvages, une telle approche permettrait d'évaluer a priori les coûts et les bénéfices de la stratégie envisagée pour la biodiversité du système d'étude et pour les différents dangers zoonotiques.



## Chapitre 3. Description de la structure et de la variabilité du microbiote intestinal des petits mammifères le long d'un gradient d'anthropisation

### I. Contexte

Le microbiote intestinal (terme désigné ci-après pour désigner la communauté bactérienne intestinale) peut être considéré comme un trait fonctionnel de son hôte, assurant de nombreuses fonctions essentielles et favorisant sa survie. Il pourrait notamment jouer un rôle dans l'adaptation de l'hôte à de nouveaux environnements ou en réponse aux perturbations environnementales (Alberdi et al., 2016; Moeller & Sanders, 2020). De plus, il existe de nombreuses interactions directes et indirectes, intra-hôtes, entre le microbiote intestinal et les pathogènes. Ainsi, l'étude des processus qui gouvernent ces assemblages microbiens semblent essentielles pour comprendre et peut-être prédire la circulation des pathogènes dans les communautés d'hôtes.

Les études du microbiote intestinal de la faune sauvage restent rares, et concernent un nombre limité d'espèces. Il reste important de décrire les variations spatio-temporelles de ce microbiote en populations naturelles, et d'en comprendre les conséquences sur la sensibilité des hôtes aux pathogènes. Les deux travaux de recherche présentés ci-dessous visent à combler ces lacunes, en se plaçant dans le contexte environnemental d'un gradient d'anthropisation. Dans la première étude, nous analysons les variations spatio-temporelles du microbiote intestinal d'une espèce de rongeurs, le mulot sylvestre *Apodemus sylvaticus*, le long de ce gradient. Dans la deuxième étude, nous examinons les interactions entre les communautés de petits mammifères et leur microbiote intestinal le long de ce gradient d'anthropisation. Nous explorons les processus écologiques sous-jacents (sélection versus stochasticité) aux patrons de biodiversité microbienne observés.

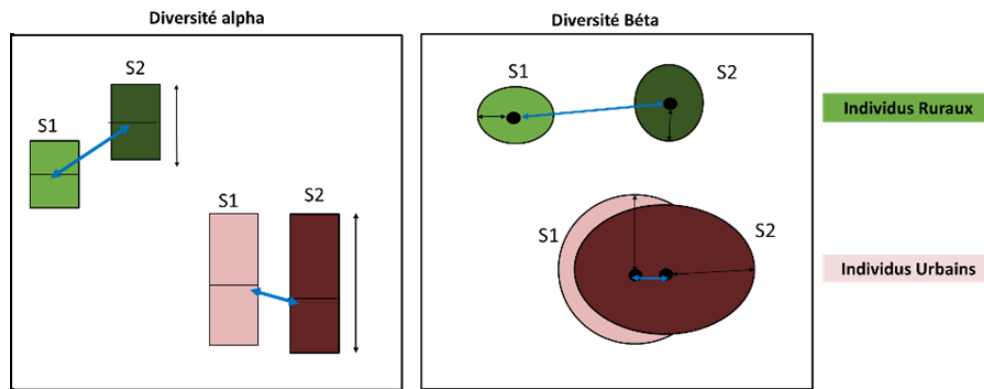
## II. Analyse spatio-temporelle du microbiote intestinal d'*Apodemus sylvaticus*

Ce paragraphe résume le travail de M1 effectué par Fanny Espeisse en 2022 sous la direction de **M. Bouilloud** et N. Charbonnel (Rapport en [Annexe](#)) :

Le microbiote intestinal est sans cesse modulé par son environnement (Alberdi et al., 2016). Il varie notamment selon les saisons (Maurice, Knowles, et al., 2015), le climat (Goertz, De Menezes, et al., 2019) ou le régime alimentaire (Wang et al., 2014). Ces variations sont en général homéostatiques, elles n'empêchent pas la réalisation par le microbiote intestinal des fonctions essentielles pour l'hôte (Shapira, 2016). Lors de perturbations majeures telles que certaines activités humaines ou des changements climatiques, une amplification des phénomènes stochastiques est observée (Zaneveld et al., 2017), entraînant une dérégulation de l'assemblage microbien, appelée dysbiose. Dans ce cas, certaines fonctions essentielles ne sont plus assurées (Barelli et al., 2015).

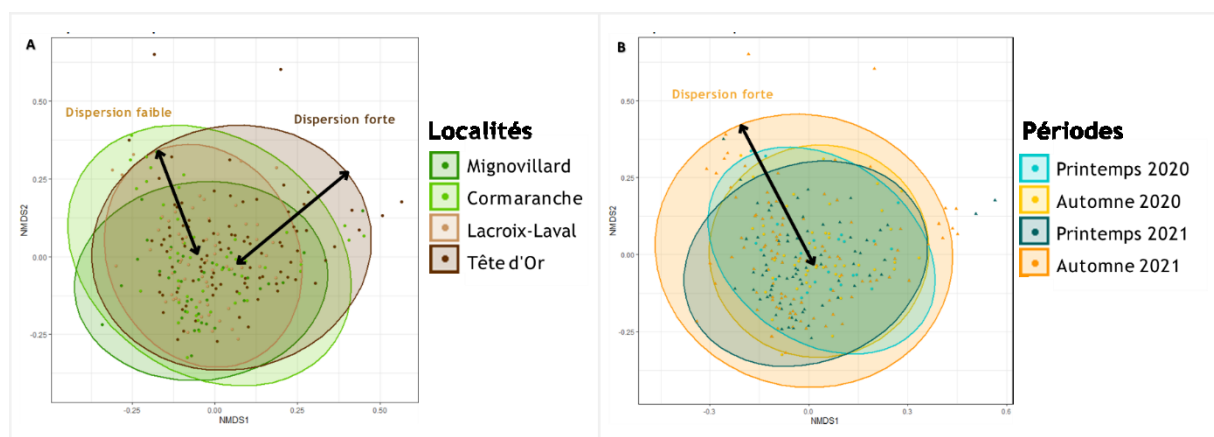
Nous avons étudié les effets de l'anthropisation et de la saisonnalité sur la diversité et la composition du microbiote intestinal du mulot sylvestre, *Apodemus sylvaticus*. Nous avons choisi cette espèce car c'était celle présentant la plus large gamme d'habitats occupés (tout le gradient) et avec une abondance permettant des analyses statistiques. Nous avons testé l'hypothèse d'un impact de l'anthropisation sur la diversité microbienne (diminution) et sur la variance de composition microbienne entre les individus (augmentation), ce qui indiquerait une dysbiose en réponse aux perturbations anthropiques (**Fig.1**). Nous avons également testé l'influence de la saison sur la diversité et la composition microbienne ? Nous attendions une variation « équilibrée » non dysbiotique, en réponse aux changements de ressources alimentaires notamment (**Fig.1**). Enfin, nous avons testé l'influence de l'interaction anthropisation x saison sur le microbiote intestinal. Nous nous attendions à ce que les saisons affectent plus fortement la composition et la diversité microbienne dans les forêts que dans les villes où l'environnement est plus constant (température, quantité de ressources disponibles) (**Fig.1**).

Ces hypothèses ont été testées en analysant les variations de la diversité microbienne intestinale intra-individuelle (diversité alpha) et de la composition microbienne entre chaque individu (diversité beta), entre sites et saisons d'échantillonnage, pour la période 2020-2021.



**Fig.1.** Schéma conceptuel basé sur les changements attendus de diversité alpha et beta, en s'inspirant du cadre de Schmid et *al.* (2022). Les individus vivant en milieu rural (forêts peu anthropisées) sont en vert, tandis que ceux en milieu urbain (espaces boisés dans les parcs) sont en rose. Les saisons 1 (S1) sont représentées en couleurs claires, et les saisons 2 (S2) en couleurs foncées. Les flèches bleues symbolisent les variations prévues de la diversité alpha ou beta, tandis que les flèches noires indiquent les changements de variance dans la diversité.

Contrairement à ce qui était attendu, les résultats préliminaires ne montrent pas ou peu de différences spatio-temporelles de la diversité et de la composition du microbiote intestinal chez *A. sylvaticus*. Nous avons seulement observé une plus forte diversité pour les *A. sylvaticus* du parc péri-urbain de Lacroix-Laval (**Fig. 2A**). Nous avons également observé une perte de diversité pour l'automne 2021, un changement de composition au printemps 2020 par rapport aux autres dates, et une forte variance de la composition du microbiote intestinal inter-individuelle pendant l'automne 2021 (**Fig.2B**). Parmi d'autres hypothèses, un évènement particulier comme la présence d'un pathogène ou des changements d'abondance de rongeurs pourraient expliquer cela (**chapitre 1**)



**Fig.2.** Diversité Beta du microbiote intestinal d'*Apodemus sylvaticus* (NMDS, distance weighted unfrac). A. Selon les localités B. Selon les périodes. Les ellipses représentent 90% de la variation autour du centroïdes. Les flèches désignent la variance intra-groupes (distance autour des centroïdes).

*Le mulot sylvestre A. sylvaticus* est une espèce généraliste qui s'adapte à une large gamme de milieux. Un microbiote intestinal diversifié et stable pourrait expliquer cette capacité (K. D. Kohl et al., 2014). La redondance fonctionnelle (i.e. la capacité de différentes espèces bactériennes présentes dans le microbiote intestinal de remplir des fonctions similaires ou analogues) pourrait également permettre au microbiote intestinal (et *in fine* à l'espèce hôte *A. sylvaticus*) d'être résilient ou résistant face aux perturbations environnementales (Moya & Ferrer, 2016a). Il serait intéressant de tester ces hypothèses en confirmant ces faibles variations spatio-temporelles de la diversité et de la composition du microbiote intestinal de *A. sylvaticus* à une échelle géographique plus large et sur des pas de temps plus longs. Des expérimentations pourraient également permettre de tester l'impact de perturbations sur le microbiote intestinal du mulot sylvestre.

### III. Impact de l'anthropisation des forêts sur les relations entre les communautés de petits mammifères et leur microbiote intestinal

#### **Effects of forest urbanization on the interplay between small mammal communities and their gut microbiota**

Marie Bouilloud, Maxime Galan, Julien Pradel, Anne Loiseau, Julien Ferrero, Romain Gallet, Benjamin Roche, Nathalie Charbonnel

<https://doi.org/10.1101/2023.09.07.556680>

#### A. Abstract

Urbanization significantly impacts wild populations, favoring urban dweller species over those that are unable to adapt to rapid and abrupt changes. One possible explanation for differential adaptative abilities between these species is that the microbiome may modulate the host phenotype rapidly through a high degree of flexibility. Conversely, under such anthropic perturbations, the microbiota composition of some species could be disrupted, resulting in dysbiosis and negative impacts on host fitness, potentially causing local extirpation. The links between the impact of urbanization on host communities and their gut microbiota have only been scarcely explored. In this study, we tested the hypothesis that the gut microbiota (GM) could play a role in host adaptation to urban environments. We addressed this question by studying several species of small terrestrial mammals sampled in forested areas along a forested gradient of urbanization (from rural forests to urban parks) during 2020 fall. The gut was collected and bacteria were described using a 16S metabarcoding approach. We tested

whether urbanization led to changes in small mammal communities and in their GM. We analyzed these changes in terms of the presence and abundance of taxa and their putative functions to decipher the processes underlying these changes. We found that urbanization had marked impacts on small mammal communities and their GM, either directly or indirectly depending on small mammal species categories. The urban dweller species had a lower taxonomic diversity but a higher functional diversity and a different composition compared to urban adapter species. Their GM assembly was mostly governed by stochastic effects, which could indicate dysbiosis in these urban species. Selection processes and an overabundance of functions were detected that could be associated with adaptation to urban environments despite potential dysbiosis. Urbanization could also impact the diversity and taxonomic composition of GM in urban adapter species. However, their functional diversity and composition remained relatively stable. This observation can be explained by functional redundancy, where certain taxa express the same function. This could explain the adaptation of urban adapter species in various environments, including urban settings. We can therefore assume that there are feedback loops between the gut microbiota and the host species within communities, enabling rapid and flexible adaptation.

## B. Introduction

Urbanization, the process of making an area more urban through higher human population within cities ([Verrelli et al., 2022](#)), is a major driver of global land use change. It is associated with increased rates of habitat loss or fragmentation, often coupled with diversity loss and species extinction (e.g. [Czech et al., 2000](#); [Dri et al., 2021](#); [Moll et al., 2019](#)). Global assessments report that urban expansion can be responsible for a 50% loss of local species richness ([Li et al., 2022](#)). Urbanization may induce rapid and abrupt changes that hinder the adaptation of species reliant on specific natural environments ([Parmesan, 2006](#)), ultimately leading to the extinction of entire populations ([Sol et al., 2017](#)). Species that are highly sensitive to urbanization-related changes and are unable to survive in urban areas are called 'urban avoiders' ([Fischer et al., 2015](#)). On the opposite, some species benefit from these anthropogenic impacts. Cities can be a refuge with abundant human food and a release from biotic pressures such as predation and competition ([Lowry et al., 2013](#); [Werner & Nunn, 2020](#)). Certain species have successfully adapted and flourished in urban environments. They attain high population densities in cities

([Šálek et al., 2015](#); [Tucker et al., 2021](#)). When they specialize to the point of living at the expense of humans, they are named urban dwellers ([Fischer et al., 2015](#)). Species with the ability to adapt to a wide range of environments and resources ([Slatyer et al., 2013](#)) are named urban adapters ([Fischer et al., 2015](#)). These species tolerate urban conditions, in particular green areas, but also survive in rural environments.

Understanding why and how some species adapt to urbanization is pivotal to addressing issues related to biodiversity crises ([Verrelli et al., 2022](#)). Urbanization can trigger changes within species, driven by processes such as selection, epigenetic inheritance, and phenotypic plasticity ([Lambert et al., 2021](#); [Rivkin et al., 2019](#)). Recently, [Alberdi et al. \(2016\)](#) advocated for a critical role of the microbial community in promoting host adaptation to rapid environmental changes, especially through its impact on host phenotypic plasticity. On one hand, the gut microbiota (noted “GM” hereafter) impacts animal biology and evolution by providing or influencing essential services that contribute to its health ([Shapira, 2016](#)) including nutrition and metabolism ([Rowland et al., 2017](#)), immunity ([Belkaid & Hand, 2014](#)) or behavior ([Ezenwa et al., 2012](#)). On the other hand, the GM is shaped by host characteristics (e.g. genomics, age or sex, [Bonder et al., 2016](#); [Santoro et al., 2017](#)), environmental features (e.g. climatic factors, resources, [Goertz et al., 2019](#); [West et al., 2019](#)) and their interactions ([Walter & Ley, 2011](#)). In addition, the GM can respond rapidly to environmental changes thanks to due to microbial flexibility (*i.e.* the potential for dynamic restructuring, [Voolstra & Ziegler, 2020](#)) but also to bacterial short generation time, high mutation rate.

Urbanization may induce different types of GM changes. Neutral changes are observed when the initial GM community is constant from a taxonomic or functional point of view ([Moya & Ferrer, 2016b](#)). Such changes could increase hosts’ phenotypic plasticity, which may be a prerequisite for adaptation ([Alberdi et al., 2016](#)).

Adaptive changes may occur, modifying the composition and diversity of GM. They can allow hosts to survive in new ecological niches, notably through the ability to digest new food sources, to improve metabolic capacities or to increase tolerance to deleterious environmental conditions ([Moeller & Sanders, 2020](#)). Over several generations, selection may favor hosts with advantageous GM, especially in disrupted environments ([Alberdi et al., 2016](#); [Moya & Ferrer, 2016a](#)). In the long term, there may be congruence between the evolutionary history of various

host species and the community structure of their associated microbiomes, what is named phyllosymbiosis ([Brooks et al., 2016](#); [Kohl, 2020](#)).

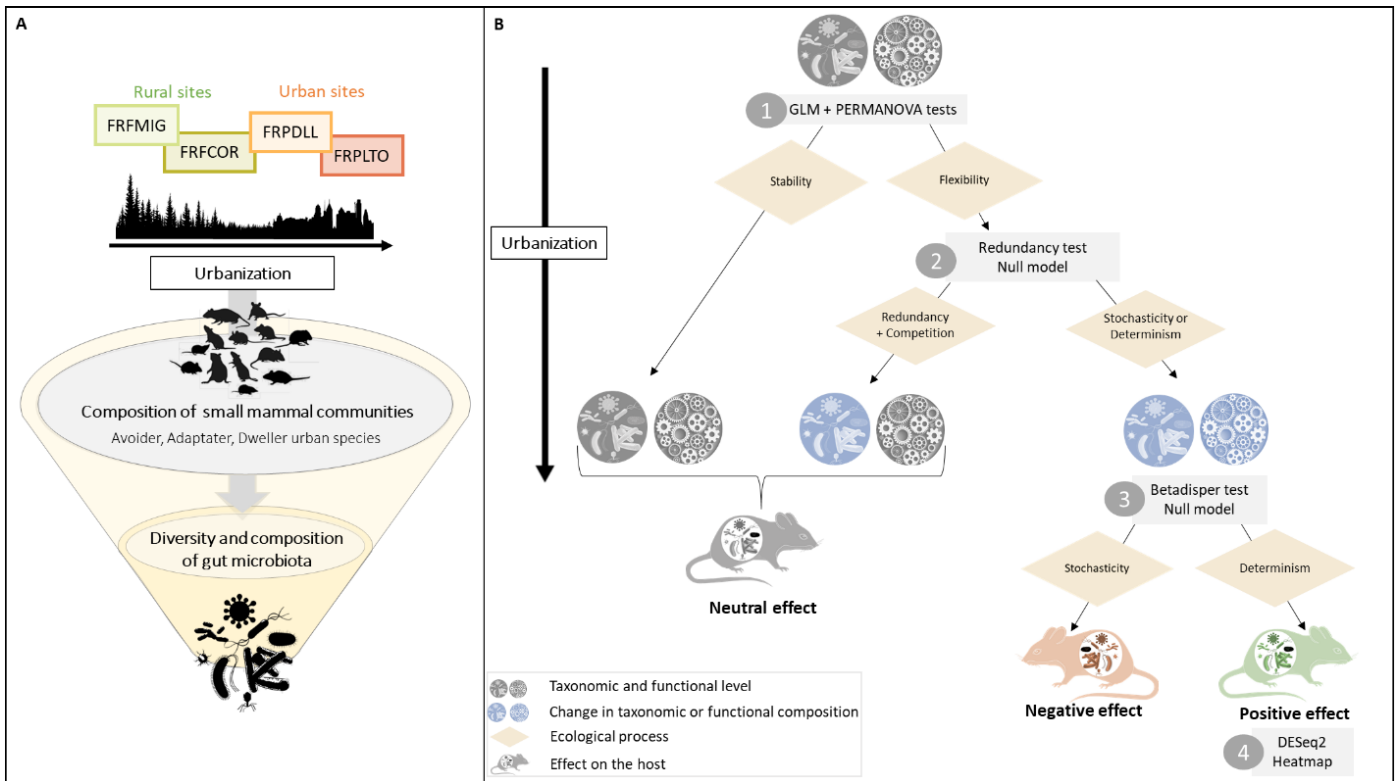
Lastly, maladaptive changes may also occur. They are associated with the loss of certain essential functions and the disruption of GM homeostasis. This state is named dysbiosis and has negative impacts on host fitness and health. In particular, several studies have shown that anthropogenic disturbances could lead to a decrease in GM diversity and to higher heterogeneity of microbial composition between hosts ([Fackelmann, et al., 2021](#); [Lavrinienko et al., 2021](#); [Wilkins et al., 2019](#)). The Anna Karenina principle (AKP) has been proposed to explain such patterns: all healthy, balanced microbiota are similar, while disrupted microbiota are all different ([Zaneveld et al., 2017](#)). Here, dysbiosis reflects stochastic processes, *i.e.*, random changes in the establishment or extinction of bacterial taxa. This can lead to immune responses and metabolism dysregulation ([Nyangale et al., 2012](#)), consequently impacting negatively the hosts' health ([Boulangé et al., 2016](#)).

Predicting the impact of environmental disturbances, especially urbanization, on wildlife and microbiota has been the topic of several studies this last decade. However, many of these studies have focused on a single host species (e.g. [Fackelmann et al., 2021](#); [Stothart et al., 2019](#); [Sugden et al., 2020](#); [Teyssier et al., 2018](#); Phillips et al., 2018; [Wasimuddin et al., 2022](#)). The few studies that investigated GM variations within host communities led to incongruent patterns with either a stronger impact of host phylogeny over habitats on GM assembly (e.g. [Knowles et al., 2019](#)) or the opposite ([Teng et al., 2022](#)). Therefore, gathering more data on the relationships between urbanization, host community assembly and their GM remains critical in the domain of urban ecology ([Verrelli et al., 2022](#)).

Small mammals constitute a relevant model to test hypotheses regarding these relationships. They represent a large diversity of mammals, have colonized a wide array of habitats and exploit diverse foraging niches ([Solari & Baker, 2007](#)). Several rodents and insectivores occur in urban environments as urban adapters or urban dwellers. Besides, a recent meta-analysis performed by [Santini et al. \(2019\)](#) has revealed that high diet diversity was a main factor predicting rodent adaptation to urbanization. This suggests that the GM could be at the core of this adaptation to urban environment.

Here, we have investigated the interlinkages between urbanization, small mammal communities and their GM in forested areas. We analyzed the presence and abundance of rodents and insectivore's species and the composition of their GM along a landscape gradient ranging from rural to urban forests. We first verified that small mammal species could be categorized as urban avoiders, adapters, or dwellers on the basis of their distribution along this urbanization gradient. Secondly, we investigated the variation in GM considering different factors, including host species, urban and rural sampling sites, and individual features. We performed community ecology analyses to examine the differences in the composition and diversity of GM i) between host species categories of urbanization response with regard to urban adaptation and ii) within host adapter species along this gradient. Next, we inferred the ecological processes (selection versus stochasticity) that could underly the variations observed, as well as the potential impacts of GM changes for the hosts (e.g. neutral, adaptative or maladaptive), following the decision tree detailed in [Fig. 1](#). Overall, this study enabled to emphasize potential links between GM and small mammals responses to urbanization.





**Fig. 1.** A) We are testing the impact of urbanization on the composition of small mammal communities along an urbanization gradient. Additionally, we are investigating whether the diversity and composition of the gut microbiota are influenced by the sites sampled along the urbanization gradient or by the small mammal species in presence. B) Decision tree for interpreting changes in microbial composition to highlight the processes that may influence the gut microbiota and its response to urbanization. Taxonomic and functional compositions are represented by icons, with blue indicating a change and grey an absence of change. Yellow diamonds represent ecological processes, and grey rectangles indicate the statistical tests performed to infer underlying ecological processes. Step 1. The GLM & PERMANOVA tests assesses whether there is a change in GM diversity and composition with urbanization. If there is no taxonomic change, it suggests that the gut microbiota remains stable despite urbanization, whereas if there are changes, the GM is considered to be flexible. When taxonomic changes occur, but functional changes are not necessarily present or are weak, redundancy processes may underlie the assembly of microbial communities. Step 2. Redundancy analysis is applied to identify situations where taxa express the same function (considered redundant) or where each taxon expresses its own function (not redundant). This test is followed by a null model test (NTI) to determine the mechanisms that may underlie the redundancy. These mechanisms can be selective processes through overdispersion (indicating competition between taxa) or underdispersion (indicating cooperation between taxa), resulting from abiotic or biotic effects among taxa. Additionally, it is worth noting that phylogenetic dispersion between taxa can also be influenced by neutral effects. Otherwise, when taxonomic and functional changes occur, stochastic or deterministic processes may underlie GM assembly. Step 3. The betadisper test examines differences in intragroup variances. High variance may result from strong selective pressures, such as dietary variance, or stochastic effects indicating processes favoring dysbiosis (see Anna Karenina's principle, Zaneveld et al., 2017). Conversely, healthy species tend to express similar essential functions, resulting in lower variance. The null model helps to determine whether GM assemblage is primarily driven by stochasticity or determinism. Step 4. We use DESeq2 test to identify the functions that may be subject to selection. A heatmap enables to illustrate these functional changes between different species and sites along the urbanization gradient. The colored rodent icon indicates the likely impact of GM changes on its health. Grey represents a neutral effect, red a detrimental effect and green a beneficial effect.

## C. Material and Methods

### 2.1. Data collection

#### Sampling and characterization of small mammals

We trapped small terrestrial mammals in two forests (FRFCOR: Cormaranche en Bugey; FRFMIG: Mignovillard) and two urban parks (FRPLTO: Lyon, Parc de la Tête d'Or; FRPDLL: Marcy l'étoile, Domaine Lacroix Laval) in Eastern France, in autumn 2020. All information concerning the sampling design, capture results, and individual information were detailed in [Pradel et al. \(2022\)](#). Sexual maturity was determined *a posteriori* based on morphological and sexual characters. Animal trapping and sample collection were conducted according the EU Directive 2010/63/EU for animal experiments, as described in [Pradel et al. \(2022\)](#).

The trapping success, often utilized as an indicator of relative rodent abundance when employing lethal traps, was estimated by analyzing the capture results obtained from the initial three nights of trapping ([Pradel et al., 2022](#)). It was calculated following [Aplin et al. \(2003\)](#) as  $\ln(1 - \text{number of rodent trapped} / (\text{number of traps} \times \text{number of nights})) \times (-100)$  (Supplementary Table S1.1).

#### Environmental characterization of sampling sites

We used Corine Land Cover (*CORINE Land Cover*, 100m of resolution) and Qgis software ([Karger et al., 2017](#)) to extract land cover area estimates for each site. In addition, we used Corine Land Cover of forests (10m of resolution) to estimate forest fragmentation using the *LandscapeMetric* package ([Hesselbarth et al., 2019](#)). These calculations were made for each site by considering a 3 km buffer around the barycenter of the traps. Lastly, we extracted bioclimatic indices from the CHELSA database (1km of resolution, <https://chelsa-climate.org/>, [Karger et al., 2017](#)) for each site using the coordinates of the traps' barycenter (Supplementary Table S1.2).

#### Gut microbiota sequencing

For each individual, we extracted DNA from a 5mm piece of colon with the DNeasy 96 Blood and Tissue kit (Qiagen). We followed the manufacturer's instructions, with the exception of the addition of a bead-beating for 5 min with 500 mg of 0.5 mm zirconia beads in a TissueLyser

(Qiagen) after the proteinase K digestion, as recommended in ([Chapuis et al., 2023](#)). We amplified the V4 region of the 16S rRNA gene by PCR with the primers 16S-V4F [GTGCCAGCMGCCGCGGTAA] and 16S-V4R [GGACTACHVGGGTWTCTAATCC] following the PCR conditions and program described in [Galan et al. \(2016\)](#). Various controls were included to facilitate bioinformatics sorting of the sequences, including replication of libraries for all samples as well as negative controls for extraction, PCR and indexing, and the ZymoBIOMICS Microbial Community Standard (Zymo). We performed a run of 2 x 251 bp MiSeq paired-end sequencing. Information about the sequencing of samples and the raw sequence reads are detailed in the Zenodo repository (<https://zenodo.org/record/8143272>).

### Sequence processing

Amplicon sequence variants (ASVs) were generated using dada2 analysis pipeline (Qiime2\_2021.11) ([Bolyen et al., 2019](#); [Callahan et al., 2016](#)). Both R1 and R2 reads were trimmed at 180 and 120 base-long respectively. This procedure improved the average quality of the reads (>Q30) and maximized the proportion of R1-R2 merging (approximately 80% of the total number of reads). Chimeric sequences were identified by the consensus method of the *removeBimeraDenovo* function. Taxonomic assignments were performed using blast+ (Camacho et al 2009) implemented in the FROGS workflow ([Escudié et al., 2018](#)) and the SILVA rRNA 138.1 database excluding the sequences with a pintail quality <100 (<http://www.arb175silva.de/projects/ssu-ref-nr/>). The phylogenetic tree of ASVs was built with FROGS using *FastTree* ([Price et al., 2009](#)) after a multiple alignment performed with *Mafft* ([Katoh et al., 2002](#)).

Further analyses were implemented in R v4.0.3 (R [Core Team, 2020](#)). Scripts are available in Zenodo repository (<https://zenodo.org/record/8143272>). Sample metadata, abundance table, taxonomy table and tree are linked in the phyloseq object using the *Phyloseq* package ([McMurdie & Holmes, 2013](#)).

We filtered false positives following the strategy described in [Galan et al. \(2016\)](#). In short, we discarded positive results with sequence counts below two ASV-specific thresholds, which checked respectively for (1) cross-contamination between samples or the presence of kitome during DNA extraction and PCR steps ( $T_{cc}$  for Threshold cross-contamination), and (2) incorrect

assignment due to the generation of mixed clusters on the flowcell ([Kircher et al., 2012](#)) during Illumina sequencing ( $T_{FA}$  for Threshold false-assignment). The  $T_{CC}$  corresponds to the maximum number of reads observed in a negative control for DNA extraction or negative control for PCR for each ASV. The  $T_{FA}$  corresponds to the putative maximum number of reads assigned by mistake to a wrong sample. We have chosen a *Mycoplasma capricolum* sample as an internal DNA control, with a maximum rate of read misassignment of  $10^{-4}$  in all MiSeq sequencing runs conducted in our laboratory from 2020 to 2022. Finally, for each sample and each ASV, only the occurrences confirmed by the two technical replicates were kept in the dataset. At this stage, the reads of the technical replicates for each sample were summed.

Based on the taxonomy of ASVs, only the kingdom Bacteria was retained. The chloroplast phyla, the unaffiliated phyla and the *Mitochondria* family were removed. We filtered individuals based on the rarefaction procedure implemented in *Phyloseq*. Individuals for which the sequencing depth was insufficient to determine all the ASVs present (*i.e.* for which the plateau had not been reached) were deleted. Next, we removed individuals corresponding to a low number of captures per site and species (threshold of five individuals/species/sites). We also excluded individuals found dead in the traps. Their GM composition differed from that of individuals captured alive, what could be explained by an advanced stage of degradation of the GM of these former individuals ([Li et al., 2020](#)). We also removed *Glis glis* individuals from the statistical analyses dedicated to GM, as the GM of this species exhibited an extremely low level of diversity with an overrepresentation of a particular ASV (Supplementary File 1).

ASVs number of reads were finally normalized to proportional abundance for each individual ([McKnight et al., 2019](#)).

## 2.2. Statistical analyses

### Composition of small mammal communities

We primarily tested whether the sampling sites were representative of an urbanization gradient rather than of other potential confounding factors. After removing significant covariates detected by a Pearson correlation test, we performed a principal component analysis (PCA) with all environmental and bioclimatic features using *FactoMineR* package ([Lê et al., 2008](#)). We used the coordinates of the first axis as a score of urbanization.

Next, we analyzed whether small mammal communities' composition was influenced by urbanization, and we verified that host species could be classified into three classical categories of urbanization response, namely avoiders, adapters and dwellers ([Fischer et al., 2015](#)). We utilized the Bray-Curtis index to generate a dissimilarity matrix of small mammals trapping success (abundance proxy) among sites. We tested whether the urbanization score influenced this dissimilarity matrix using the *capscale* function of the *vegan* package ([Oksanen et al., 2020](#)). Significance was assessed using 10,000 permutations. We selected the best model using the *ordiR<sup>2</sup>step* function.

### **Gut microbiota taxonomic and functional diversity**

Throughout this study, we described GM using information relative to bacterial taxa (*i.e.* ASVs) and functional metagenomic predictions obtained using *Picrust2* software ([Douglas et al., 2018](#)). For functional predictions, the metabolic pathway description and enzyme classes were obtained from the MetaCyc database ([Caspi et al., 2014](#)).

### **Variations in the alpha diversity of the gut microbiota**

We first estimated the GM alpha diversity, *i.e.* the diversity of within-host bacteria, using the taxonomic richness, the Shannon index and two metrics considering taxa phylogenetic diversity, estimated using the *picante* package ([Kembel et al., 2010](#)). These metrics are the Faith index which corresponds to phylogenetic diversity (PD) and the Nearest Taxon Index (NTI) ([Webb, 2000](#)), which reflects phylogenetic structuring near the ends of the tree. Finally, in order to address functional diversity, we calculated the richness index of predicted functions using *MiscMetabar* (e. g. [Alberdi & Gilbert, 2019](#)).

We next tested the relative influence of host species, sampling sites, and their interaction on the taxonomic and functional diversity indices described above using generalized linear models (GLMs). Individual factors such as maturity and sex of animals were also investigated. We used the negative binomial distribution for species richness and the Gaussian distribution for the other indices. We highlighted the deviation and dispersion of the model residuals from normality with the *DHARMA* package ([Hartig, 2022](#)) and we applied transformation when necessary. The selection of the best model was made by considering all possible model

combinations using the *dredge* function of the *MuMIn* package and the Akaike information criterion corrected for small sample size AICc ([Johnson & Omland, 2004](#)). We then averaged the partitioned variance of each factor in the best model using *variancePartition* ([Hoffman & Schadt, 2016](#)). When site and/or species factors were significant, Tukey's post-hoc tests were applied to assess pairwise differences in modalities, using the *multcomp* package ([Hothorn et al., 2008](#)). Because species were not evenly distributed among sites, the dataset was not balanced. To better assess the interaction effect, a factor combining species and site was defined (named species-site hereafter). A linear model was applied, followed by a Tukey post-hoc test comparing only possible biological interactions with a contrast matrix. Specifically, we compared the diversity i) between host species and ii) within adapter species along the urbanization gradient.

### **Ecological processes shaping the diversity of the gut microbiota**

We used two approaches to infer the relative influence of ecological processes in shaping the GM taxonomic and functional diversity.

We examined the importance of functional redundancy by analyzing the correlations between functional and taxonomic richness for each species-site combination ([Fig. 1B](#), step 2). A slope lower than 1 indicated functional redundancy, *i.e.* multiple bacterial taxa having the same function ([Lamothe et al., 2018](#)), while a slope greater than 1 indicated that bacterial taxa may have more than one function. We tested whether these slopes differed significantly between species-site combinations, using an analysis of covariance (ANCOVA) performed with a GLM. A post-hoc test was applied using *emmeans\_test* with *rstatix* package ([Kassambara, 2022](#)) to compare pairs of slopes between species-site combinations. Here, we considered the taxonomic richness as a covariate of functional richness. The matrix contrast of biological pairs and Benjamini-Hochberg corrections for multiple tests were implemented to assess the significance of interactions.

Next, NTI values provided information about the relative influences of stochastic and deterministic processes on GM composition ([Webb et al., 2002](#)). When GM is predominantly influenced by stochastic processes, its phylogenetic composition is expected to align closely with random community assembly expectations ( $-2 < \text{NTI} < 2$ ). In the opposite, selection mediated by environment (environmental filtering) should lead to phylogenetic clustering, *i.e.*

the coexistence of taxa that are more closely related than expected by chance ( $NTI > 2$ ). Selection mediated by bacterial species competitive interactions should lead to phylogenetic overdispersion, *i.e.* the coexistence of taxa that are more distantly related than expected by chance ( $NTI < -2$ ). We tested these hypotheses by comparing ASVs phylogeny to a null model, generated by randomizing the bacterial ASV labels between taxa (with the parameter: `null.model="taxa.labels"`; [Fig. 1B](#), step3).

## Gut microbiota taxonomic and functional composition

### Variations in the beta diversity of the gut microbiota

We measured GM beta diversity, which refers to bacteria diversity between hosts, to compare taxonomic and functional composition with regard to host species, sampling sites and individual features. Additionally, we examined i) between host species categories of urbanization response and ii) within host adapter species along the urbanization gradient.

Dissimilarities in taxon composition (ASVs) were calculated based on the normalized ASVs abundance table and the weighted unifracs index. This index considers both the abundance of ASVs and their phylogenetic relationships. We analyzed changes in GM composition along the urbanization gradient using the *vegan* package ([Oksanen et al., 2020](#)). We tested the influence of small mammal species, sites and individual factors (sex and maturity) on GM composition using a permutational analysis of variance (PERMANOVA) implemented with the *capscale* function. The best model was selected using permutation tests in constrained ordination, and the *ordiR<sup>2</sup>step* function maximizing the  $R^2$  value. Besides, we performed a distance-based redundancy analyses (db-RDA) from the previously obtained constrained ordination. This enabled to highlight, in addition to the “*pairwise adonis*” post-hoc test, the variation between each pair within sites and species.

### Ecological processes shaping the composition of gut microbiota

We applied several approaches to infer the relative influence of ecological processes in shaping the composition of the GM ([Fig. 1B](#)).

First, PERMANOVA analyses were performed to provide information on GM flexibility ([Fig. 1B](#), step 1). We considered both variations in GM composition along the urbanization gradient for

adaptive species and variations in GM composition between sympatric urban adapter and dweller species.

Second, we tested whether the variations in GM composition resulted from adaptive or non-adaptive changes. We estimated intra-host species and intra-site dispersal using the *PERMDISP2* test implemented with the *betadisper* function. High dispersal indicated that the GM composition was likely to be driven by stochastic processes while low dispersal could reflect selective processes favoring similar microbial functions ([Fig. 1B](#), step 3).

In addition, the null model approach was applied to quantify the contribution of ecological processes (stochasticity vs selection) on GM composition assembly and turnover ([Stegen et al., 2013](#)). We followed the procedure described by [Barnett et al. \(2020\)](#) to generate the  $\beta$ -nearest taxon index ( $\beta$ NTI). Briefly, we used the *comdistnt* function from the *picante* package to determine the  $\beta$ -mean-nearest taxon distance ( $\beta$ MNTD). We generated null values of  $\beta$ MNTD by randomly reshuffling 1,000 times the extremities of the phylogenetic tree. Finally,  $\beta$ NTI was calculated according to the formula:  $\beta$ NTI =  $(\beta$ MNTD<sub>observed</sub> - mean ( $\beta$ MNTD<sub>null</sub>)) / standard deviation ( $\beta$ MNTD<sub>null</sub>). Selection was a major process when  $\beta$ NTI was lower than - 2 or higher than 2 ([Stegen et al., 2013](#)). In this case, the phylogenetic turnover of the GM was lower or higher than expected by chance respectively. In contrast, when  $\beta$ NTI values ranged between - 2 and 2, we concluded that stochastic processes were the main drivers of the GM composition.

After clustering individuals by species-site combination, we counted the number of observations of each ecological process, according to the  $\beta$ NTI values, within each combination. We performed a chi-2 test to detect observations that were significantly different from null expectations.

Lastly, we determined whether individuals from a given species-site combination had more similar functions than individuals from different species-site combinations, which could be the result of selective processes ([Fig. 1B](#), step 4). This analysis was performed using the *DESeq2* package with count data and a negative binomial family (the Wald Test parameter) (Love et al., 2014). We added +1 to the abundance dataset to avoid a zero-inflation bias.



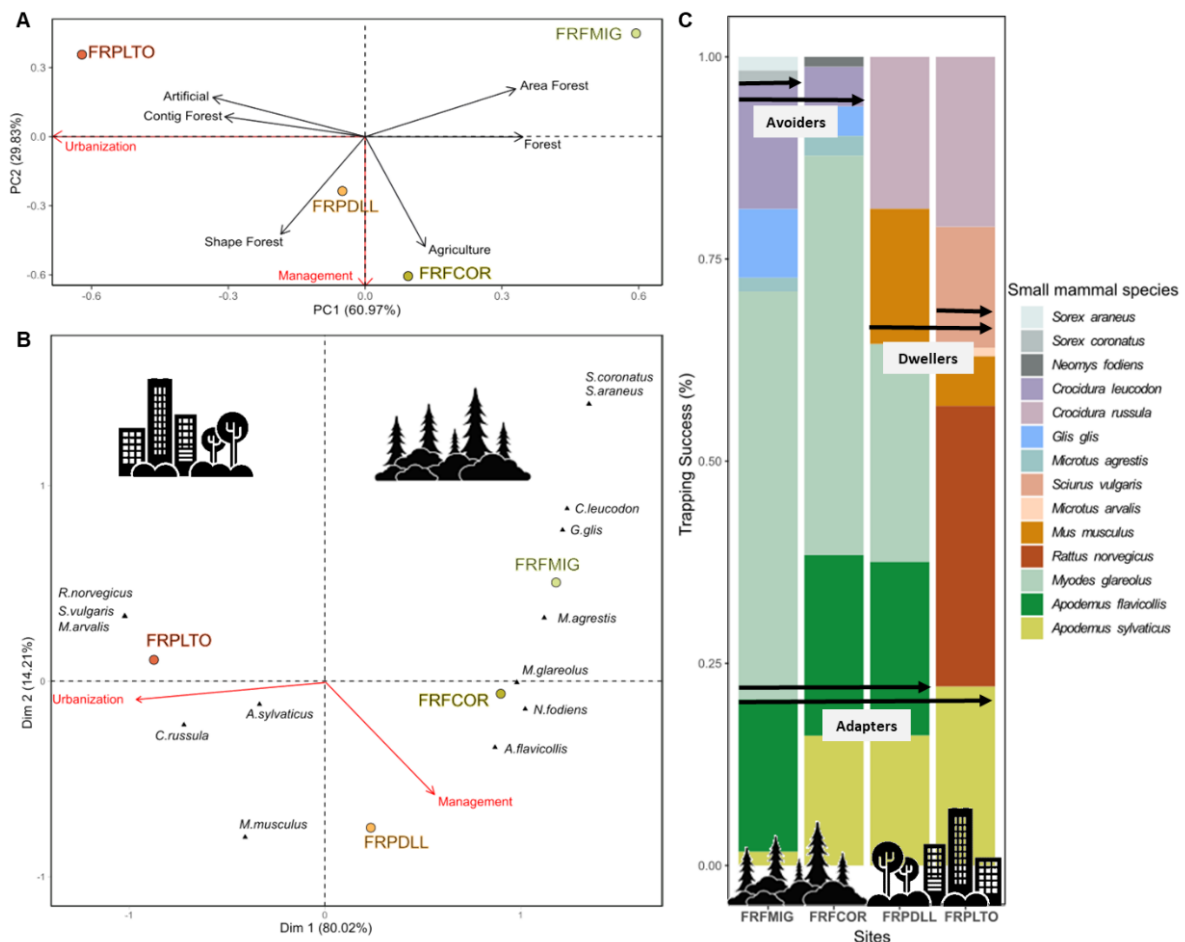
## D. Results

### 3.1. Urbanization influences small mammal communities

Based on a sampling effort of 2163 traps-nights, we recorded a total of 228 small mammals, *i.e.* a global trapping success rate of 10.5%. They corresponded to 14 species. Nine species belonged to the order *Rodentia* and to four families: *Gliridae* (*Glis glis*), *Sciuridae* (*Sciurus vulgaris*), *Muridae* (*Rattus norvegicus*, *Mus musculus*, *Apodemus sylvaticus* and *Apodemus flavicollis*) and *Cricetidae* (*Myodes glareolus*, *syn. Clethrionomys glareolus*, *Microtus arvalis* and *Microtus agrestis*). Five species belonged to the order *Soricomopha* and *Soricidae* family (*Sorex araneus*, *Sorex coronatus*, *Neomys fodiens*, *Crocidura russula* and *Crocidura leucodon*) (Fig. S1).

#### Sampling sites delineate an urbanization gradient

The first axis of the PCA based on site characteristics explained 60.97% of the total variation and opposed artificial areas and contiguous forests to a forested environment with larger forested areas (Fig. 2A). Sampling sites were organized along this axis that described a gradient of urbanization with urban sites (FRPLTO and in a lesser extent FRPDLL) and rural sites (FRFCOR and FRFMIG).



**Fig. 2.** Analyses of small mammal community variations. A) Principal component analysis (PCA) of the environmental features characterizing sampling sites (black arrows. The red arrows indicate that PCA1 axis describes a gradient of urbanization while PCA2 axis describes differences in land management. B) Canonical correspondence analysis (CCA) of the small mammal trapping success per site. Sites are represented by dots and color code. Species are represented by a black triangle. The two first PCA axes were included as explanatory variables in the canonical analysis and are represented by red arrows. C) Bar graph showing the relative trapping success of species (represented by colors) per site, ordered from the less (FRFMIG) to the more (FRPLTO) urbanized ones. The icons highlight the variations between urban and rural locations, with arrows denoting the species classification on the urbanization spectrum. Species that are not found in urban zones are classified as urban avoiders, those only present in urban areas are urban dwellers, and those found in both areas are urban adapters.

### *Small mammal species exhibit distinct categories of response to urbanization*

The assembly of small mammal communities differed among sampling sites (Fig. 2A; Fig. S2). Although the geography, climate and land use explained part of this variation (Fig. S3; Supplementary Table S1.2), urbanization was the main factor driving the differences observed between sites. Rural sites homed seven (FRFCOR) or eight (FRFMIG) small mammal species and they had six species in common. Urban sites homed fewer small mammal species (respectively

five in FRPDLL and six in FRFLTO) and they shared three species. FRFDLL also had three species in common with the rural sites, while FRFPLTO had only one species in common with these sites.

The CCA based on small mammal relative abundance revealed that sites differed in the composition of small mammal communities and this variation was found to be associated with urbanization ([Fig. 2B](#)). The first axis of the CCA explained 80% of the total variance and it represented the urbanization score. PERMANOVA tests showed that small mammal community composition was significantly influenced by urbanization ( $F=5.36$ ,  $p=0.04$ ) with 57% of the variance explained by this factor (Supplementary Table S1.3).

Small mammal species corresponded to the avoider, adapter and dweller categories defined in the literature to describe wildlife responses to urbanization ([Fischer et al., 2015](#)). Some species, *G. glis*, *M. agrestis*, *S. araneus*, *S. coronatus*, *N. fodiens* and *C. leucodon*, were urban avoiders. Their relative abundance was always lower than the urban dweller and adapter species. Other species were present in both rural and urban sites. These urban adapters are *M. glareolus*, *A. flavicollis* and *A. sylvaticus* ([Fig. 2C](#)). They varied in abundance between sites: the relative abundance of *A. sylvaticus* increased along the urbanization gradient while the relative abundance of *M. glareolus* and *A. flavicollis* decreased with urbanization. They were even absent from the most urbanized site FRPLTO. In contrast, urban dwellers, namely *R. norvegicus*, *M. musculus*, *S. vulgaris* and *C. russula*, were relatively abundant compared to urban adapters.

Rare species were not included in further analyses of GM diversity and composition.

### *3.2. Urbanization influences alpha diversity of small mammal gut microbiota*

We obtained a total of 5478 ASVs derived from 222 small mammals after the filtration steps. They corresponded to 1969 enzyme commissions (ECs) and 383 metabolic pathways. For all analyses, we found similar results between EC and metabolic pathway diversity, so we only presented the results relative to pathways below.

Small mammal species identity influences gut microbiota alpha diversity (Fig.1B, step1)

Small mammal species was the main factor explaining variations in GM alpha diversity, whatever the indices analyzed (GLM, taxonomic richness:  $F=80.42$ ,  $p<2.2e-16$ ; Shannon index:  $F=56.75$ ,  $p=2.2e-16$ ; Faith's PD:  $F=37.58$ ,  $p=2.2e-16$ , Fig. 3A; functional diversity:  $F=7.29$ ,  $p=4.4e-07$ ; Fig. 3B; Table1).

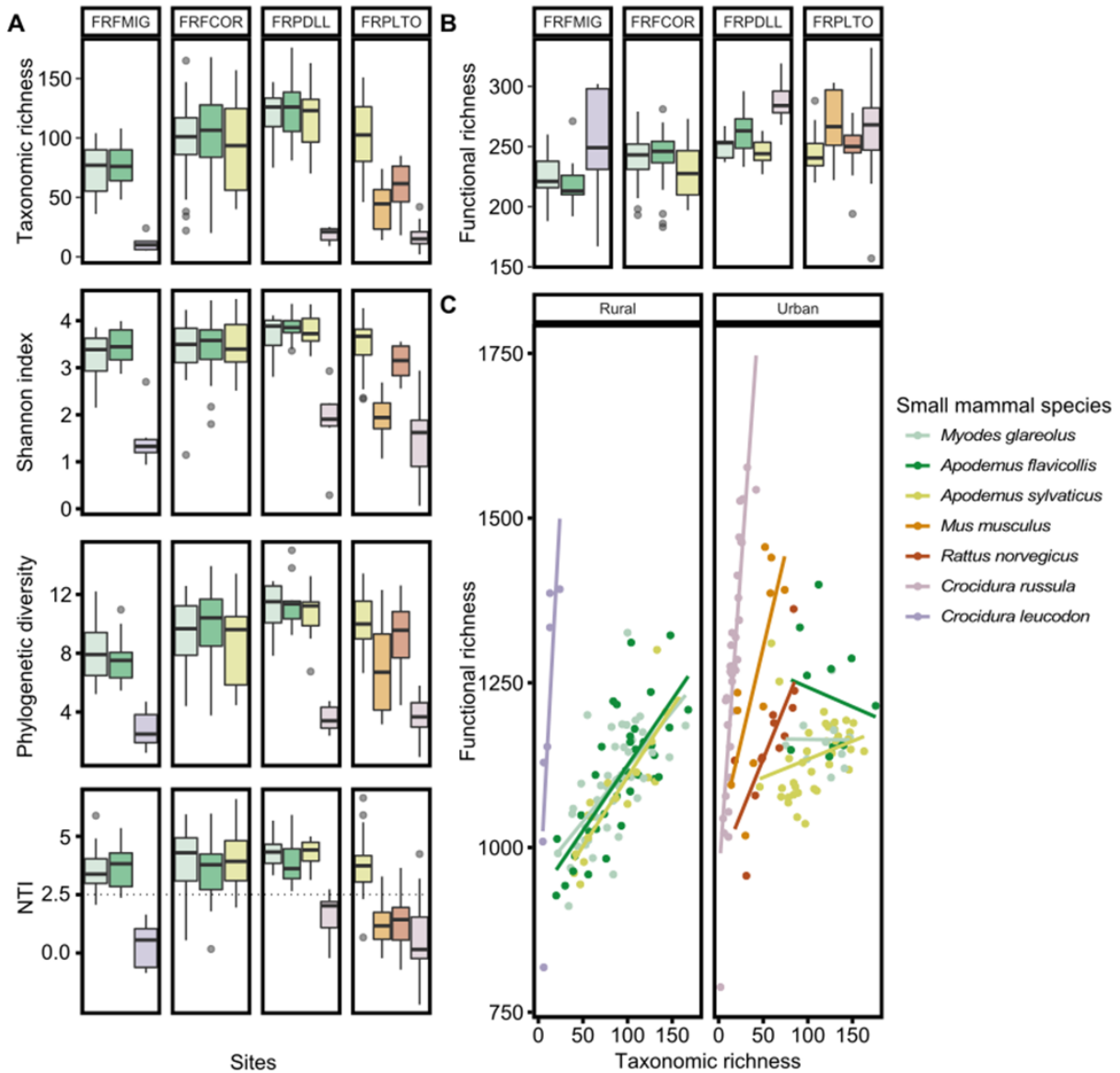


Fig. 3. Boxplot showing variation in the alpha diversity of the gut microbiota between small mammal species in rural sites (sites FRFMIG and FRFCOR) and urban sites (sites FRPDLL and FRPLTO). The color codes correspond to small mammal species and they remain the same for all subfigures.

Alpha diversity was measured A) at the taxon level with the taxonomic richness (number of ASVs), Shannon index, phylogenetic diversity (PD) and Nearest Taxon Index (NTI) and B) at the functional level with the functional richness corresponding to the number of metabolic pathways. C) Plot of the correlation between the taxonomic and functional richness for each small mammal species in rural (FRFMIG, FRFCOR) and urban (FRPDLL, FRPLTO) sites. [Open in new tab](#)

**Table 1.** Results of the best models for the different GLM tests performed for each taxonomic and functional diversity index. For each variable in the best model, the *F* value, the *P* value, *R*<sup>2</sup> and the percentage of the variance explained are indicated (some factors explain the same proportion of the variance). The red gradient indicates the importance of the *R*<sup>2</sup> and of the variance explained in the models.

Data	Metrics	Bestmodels	F value	P value	R <sup>2</sup>	Total Variance %
Taxonomic diversity	Specific Richness	Sites	10.06	3.17e-06	0.040	4
		Maturity	2.52	0.11	0.002	0
		Small mammal species	80.42	< 2.2e-16	0.700	84
	Shannon index	Sites	4.38	5.15e-03	0.020	3
		Maturity	4.97	0.03	0.008	1
		Sex	2.95	0.09	0.004	2
		Small mammal species	56.75	< 2.2e-16	0.660	69
	Phylogenetic Diversity	Sites	14.77	9.24e-09	0.140	25
		Small mammal species	37.58	< 2.2e-16	0.520	65
	NTI	Sites	2.80	0.04	0.210	38
Small mammal species		29.81	< 2e-16	0.360	66	
Functional diversity	Specific Richness	Sites	12.13	2.37e-07	0.180	40
		Maturity	4.49	0.04	0.020	3
		Small mammal species	7.29	4.40e-07	0.150	34

Among *Muridae*, the GM of the three urban adapter species, *A. sylvaticus*, *A. flavicollis*, and *M. glareolus*, exhibited similar levels of alpha diversity, whatever the indices considered (Fig. 3; Supplementary Table S2.1).

The GM taxonomic diversity was significantly lower for urban dweller species than for urban adapter species (Fig. 3A; Supplementary Table S2.1). *C. russula*, *M. musculus* and *R. norvegicus* had lower taxonomic diversity than *Apodemus* sp. and *M. glareolus* in FRPDLL and/or FRPLTO. This pattern was less pronounced for *R. norvegicus* in FRPLTO when considering Shannon and PD indices compared to the taxonomic richness (Fig. 3A, Supplementary Table S2.2).

Conversely, the urban dweller species showed a greater GM functional diversity than the urban adapter species (e.g. *M. musculus*, *R. norvegicus* and *C. russula* compared to *A. sylvaticus* in FRPLTO, or *C. russula* compared to *Apodemus* sp. and *M. glareolus* in FRPDLL; [Fig. 3B](#); Supplementary Table S2.2).

#### Urbanization influences gut microbiota alpha diversity ([Fig. 1B](#), step1)

Overall, the GM diversity increased with urbanization for all diversity indices considered except NTI ([Fig. 3A](#) and [3B](#), Supplementary Table S2.1). The GM diversity of adapter species was lower in the rural sites FRFMIG and FRFCOR than in the urban ones FRPLTO and FRPDLL (Supplementary Table S2.1). This impact of urbanization was dampened when considering the Shannon index (Supplementary Table S2.1).

The interaction between species and site significantly explained variations of alpha diversity in all the models tested (GLM; Taxonomic richness:  $F=43.86$ ,  $p<2.2e-16$ ; Shannon:  $F=33.67$ ,  $p=2.2e-16$ ; PD:  $F=21.39$ ,  $p<2.2e-16$ ; Functional richness (Pathway):  $F=9.27$ ,  $p=5.58e-15$ ; Supplementary Table S2.2). The GM alpha diversity of *M. glareolus* and *A. flavicollis*, but not *A. sylvaticus*, increased along the urbanization gradient whatever the indices considered (Supplementary Table S2.2).

#### Gut microbiota functional redundancy and phylogenetic clustering vary with urbanization ([Fig. 1B](#), step2)

The covariance between functional and taxonomic richness indices was significantly influenced by small mammal species (ANCOVA,  $F=19.71$ ,  $p=2.2e-16$ ), site (ANCOVA,  $F=6.71$ ,  $p=2\times 10^{-4}$ ) and sex (ANCOVA,  $F=5.26$ ,  $p=0.02$ ) ([Fig. 3C](#)). Overall, the covariance was higher for urban dweller species than for urban adapter species ([Fig. 3C](#); Supplementary Table S2.3). This pattern was also significant at the scale of a particular site. For example, at FRPLTO, the slope for all other urban dweller species was higher than 1 (*R. norvegicus*,  $a=3.30$ ; *M. musculus*,  $a=5.70$ ; *C. russula*,  $a=17.00$ ) whereas it was lower than 1 for *A. sylvaticus* indicating functional redundancy for this urban adapter species (*A. sylvaticus*,  $a=0.37$ ).

The covariance decreased along the urbanization gradient for urban adapter species, indicating high levels of functional redundancy in urban parks but not in forests (Supplementary Table S2.3; [Fig. 3C](#); *M. glareolus*: FRFMIG,  $a=2.10$ , FRFCOR,  $a=1.90$  and FRPDLL,  $a=-0.02$ ; *A. flavicollis*:

FRFMIG,  $\alpha=2.10$ , FRFCOR,  $\alpha=1.90$ ; FRPDLL,  $\alpha=-0.59$ ; *A. sylvaticus*: FRFCOR,  $\alpha=2.10$ , FRPDLL,  $\alpha=0.93$  and FRPLTO,  $\alpha=0.37$ ).

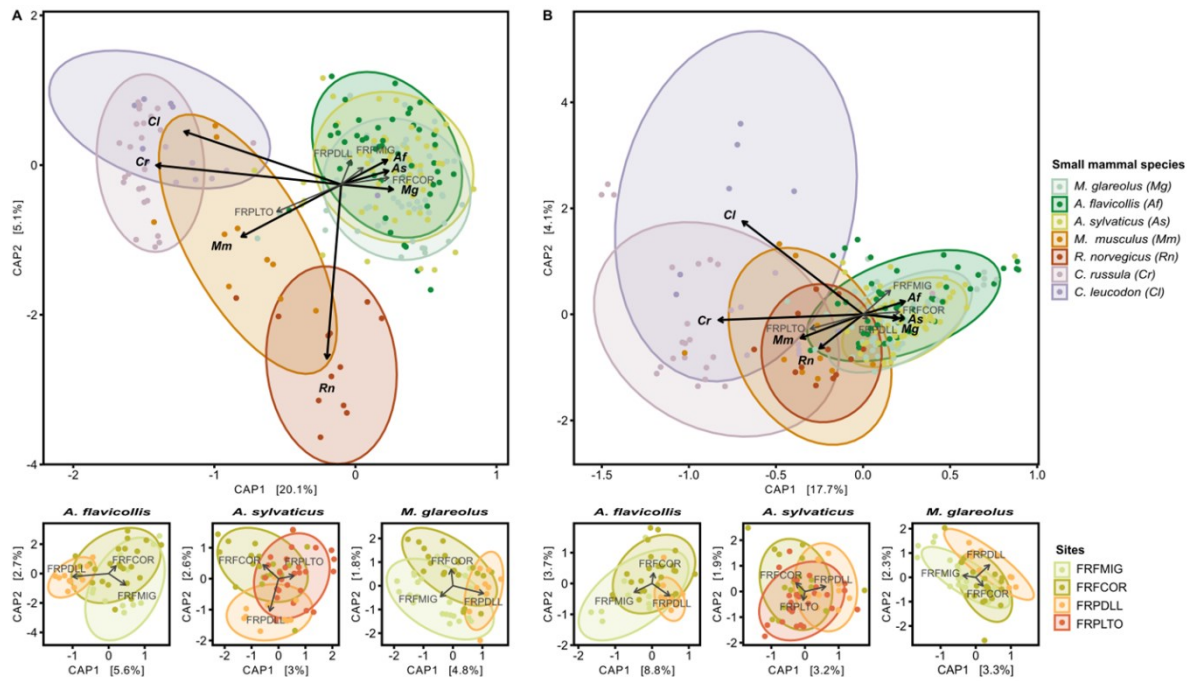
NTI showed significant variations mainly among species categories of urbanization response ( $F=29.8$ ,  $p=2.2e-16$ ). We detected high NTI values for urban adapter species (NTI < -2), indicating a significant phylogenetic clustering ([Fig. 3A](#), Supplementary Table S2.1). No significant pattern was detected for the urban dweller species (NTI values ranged between -2 and 2, close of 0). No changes were observed along the urbanization gradient for the adapter species (Supplementary Table S2.1).

### *3.3 Gut microbiota composition changes between small mammal species and along the urbanization gradient*

#### *Gut microbiota composition varies with urbanization ([Fig. 1B](#), Step1)*

The GM taxonomic composition was significantly influenced by small mammal species (PERMANOVA,  $R^2=0.32$ ,  $F=12.57$ ,  $p=0.001$ ) and sites (PERMANOVA,  $R^2=0.08$ ,  $F=9.06$ ,  $p=0.001$ ) (Supplementary Fig. S3, Table S3.1). We observed the same results for the GM functional composition (PERMANOVA, species:  $R^2=0.25$ ,  $F=8.50$ ,  $p=0.001$ ; sites:  $R^2=0.08$ ,  $F=7.70$ ,  $p=0.001$ ; Supplementary Table S3.1).

The db-RDA ([Fig. 4A](#), 4B) showed that the clustering of individuals was driven by their species affiliation, then by their adaptation to urbanization rather than by their phylogeny (partial Mantel test, ASV:  $R=0.61$ ,  $p=0.004$ ; function  $R=0.58$ ,  $p=0.004$ ; Supplementary Fig. S5, Table S3.2). Indeed, the first axes opposed urban dweller species to urban adapter species.



**Fig. 4.** Distance-based redundancy analysis (db-RDA) of small mammal GM performed A) on ASVs and using the weighted Unifrac dissimilarity matrix and B) on functions and using the Bray-Curtis dissimilarity matrix. Only significant factors based on the *capscale* and *ordiR2step* analyses are indicated by arrows. The ellipses represent a 90% confidence interval around the centroids of the groups. The larger graph shows the significant factors modulating GM composition. Each point represents the GM of an individual and the color illustrates the small mammal species. The smaller graphs below represent the variation of the GM composition along the urbanization gradient for urban adapter species (*A. sylvaticus*; *A. flavicollis* and *M. glareolus*). Each point represents the GM of an individual and the colors represent sites and the urbanization gradient. [Open in new tab](#)

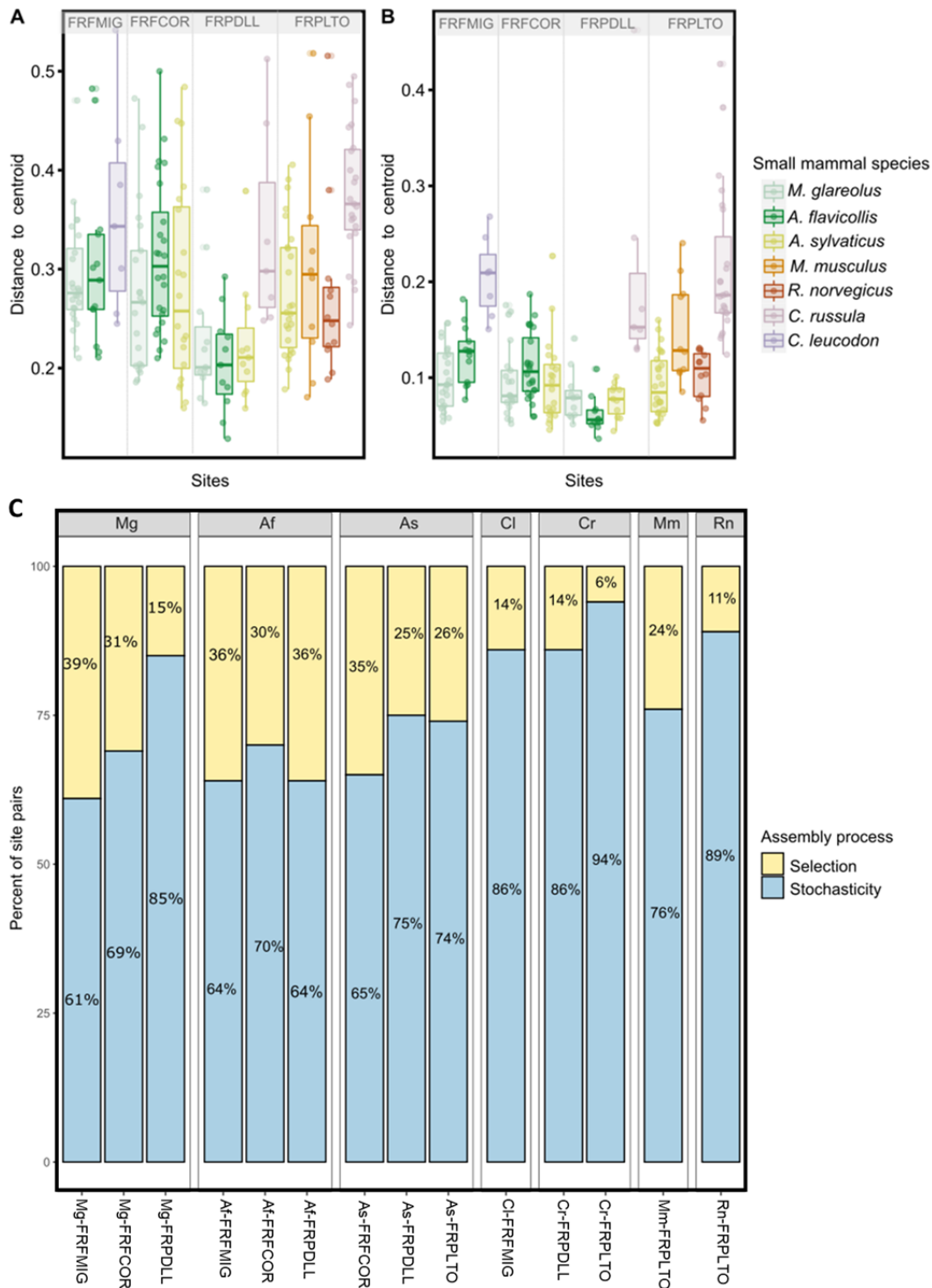
The GM composition (ASVs and functions) of *A. sylvaticus* (family *Muridae*) was closer to the one of *M. glareolus* (family *Cricetidae*) than to the one of *R. norvegicus* or *M. musculus* (family *Muridae*) (Fig. 4). These differences were also observed when considering species living in sympatry, especially at FRPLTO (Supplementary table S3.1, Fig. S4).

Urban adapter species showed contrasted changes in GM composition along the urbanization gradient. No change in taxonomic nor functional composition was observed for *A. sylvaticus* (ASV: Fig. 4A,  $F=1.60$ ,  $p=0.052$ ; function: Fig. 4B,  $F=1.46$ ,  $p=0.110$ ). *A. flavicollis* GM composition slightly changed with urbanization at both the taxonomic (Fig. 4A,  $F=2.03$ ,  $p=0.020$ ) and functional (Fig. 4B,  $F=3.22$ ,  $p=0.010$ ) levels. *M. glareolus* GM changed with urbanization at the taxonomic level (Fig. 4A;  $F=1.87$ ,  $p=0.020$ ) but not at the functional level (Fig. 4B;  $F=1.58$ ,  $p=0.090$ ).



The relative influence of ecological processes driving gut microbiota composition varies with urbanization ([Fig. 1B](#), step3). We showed that the overall dispersion of the GM composition tended to increase with urbanization (Betadisper test, ASV:  $F=17.53$ ,  $p=3.16 \times 10^{-10}$ ; function  $F=11.73$ ,  $p=3.78 \times 10^{-7}$ , Fig. S6), in particular at FRPLTO (Supplementary Table S3.3). Small mammal species differed significantly in terms of dispersion (Betadisper test, ASV:  $F=6.67$ ,  $p=9.37 \times 10^{-8}$ ; function:  $F=31.85$ ,  $p=2.2 \times 10^{-16}$ ). Urban adapter species exhibiting lower levels of dispersion than some urban dwellers, mainly in urban park (e.g. *C. russula* for both taxonomic and functional composition; *M. musculus* for the functional composition only, Supplementary Table S3.3).

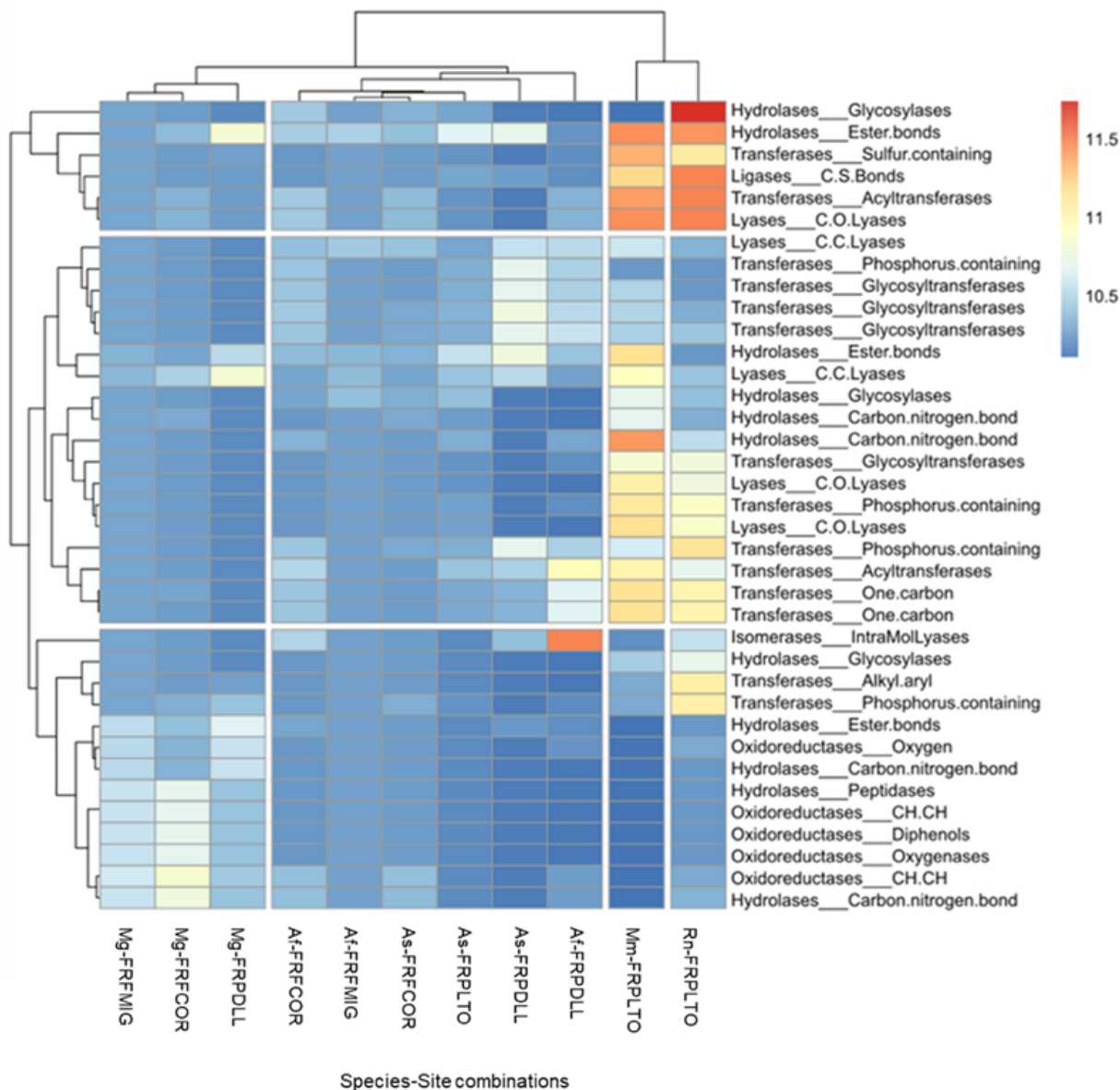
When we considered species-site combinations, we showed that urbanization dampened the dispersion in GM composition for two urban adapter species (Betadisper test, ASV:  $F=5.06$ ,  $p=1.77 \times 10^{-6}$ , [Fig. 5A](#); function:  $F=16.30$ ,  $p=2.2 \times 10^{-16}$ , [Fig. 5B](#); Supplementary Table S3.3), *M. glareolus* and *A. flavicollis* (Betadisper test, ASV:  $F=5.06$ ,  $p=1.77 \times 10^{-6}$ ; function:  $F=16.30$ ,  $p=2.2 \times 10^{-16}$ , [Fig. 5A.B](#); Supplementary Table S3.3).



**Fig. 5.** Boxplot of the distance to the centroid of each individual for each species-site combination at A) taxonomic and B) functional levels. Each point corresponds to an individual and the colors correspond to small mammal species. The combinations are ordered according to the urbanization gradient. C) Processes responsible for bacterial assembly and turnover in each combination of small mammal species and site. Percentage of pairs of individuals within each species-site combination for which selective processes (yellow) or stochastic processes (blue) are emphasized. [Download figure](#)

We next assessed the relative influence of community assembly processes using the  $\beta$ NTI index. Phylogenetic turnover was mainly shaped by stochasticity (>60%) (Fig. 5C). The allocation of assembly processes within species-site combinations was significantly different from what was expected (Chi-2 test,  $c^2= 120.5$ ,  $p= 2.2e-16$ ). The “small mammal species” and “sampling sites” factors had significant effect on GM assembly. The GM assembly of urban adapter species was relatively more influenced by selection in forests (FRFMIG: *M. glareolus* 39%, *A. flavicollis* 36%; FRFCOR: *M. glareolus* 31%, *A. flavicollis* 30% and *A. sylvaticus* 35%), as well as in FRPDLL for *A. flavicollis* (36%) (Fig. 5C, S7). We detected a strong influence of stochasticity in dweller species (*C. russula* in FRPDLL and FRPLTO, 86% and 94%, respectively; *R. norvegicus* in FRPLTO, 89%), avoider species (*C. leucodon* in FRFMIG, 86%) and for *M. glareolus* in the urban park FRPDLL (85%) (Fig. 5C, S7).

The abundance of gut microbiota pathways and enzymes varies with urbanization (Fig. 1B, step4). We found 236 out of 383 metabolic pathways and 1064 out of 1969 enzymes with differential abundances between species-site combinations (Supplementary Table S3.4, Fig. 6; Fig. S8B). The urban dweller species diverged from urban adapter species due to an over-representation of some hydrolases (ester bond group) and transferases (sulfur and phosphorus containing groups, acyltransferases, glycotransferases). Different enzyme classes showed differential abundance along the urbanization gradient for the three urban adapter species. Hydrolases (ester bond group) were more abundant in urbanized sites for *M. glareolus* and *A. sylvaticus*. For *M. glareolus*, we also detected an over-representation of lyases (C.C. group) and an under-representation of hydrolases (peptidases and carbon nitrogen group) and oxidoreductases in FRPDLL compared to FRFMIG and FRFCOR. For *A. flavicollis*, we found an over-representation of transferases (acyltransferases and one carbon) and isomerases (intramolecular lyases) in FRPDLL compared to FRFMIG and FRFCOR. The results for the taxonomic families and pathways are summarized in supplementary materials (Supplementary Table S3.4, Fig. S8A).



**Fig. 6.** Heat map based on the DESeq2 results, considering GM functions (c-enzymes, EC) with significantly different abundances between species-site combinations. The color gradient corresponds to the magnitude of the differences. Red values indicate a strong score and blue values a weak score. Species-site combinations and enzyme classes are ordered according to their profile. [Open in new tab](#)

## E. Discussion

### 4.1 Small mammal communities change with urbanization

Urbanization represents one of the most extreme forms of land use change ([Johnson & Munshi-South, 2017](#)). It may result in modifications of host community composition with an increased abundance of exotic species at the expense of native ones ([Faeth et al., 2011](#)). Here we sampled small mammals in forested sites along a gradient of urbanization, which was distinguished by the extent of artificial features as well as the size and fragmentation of the forests. We observed marked changes in the composition of small mammal communities along this gradient, as previously shown in other studies ([Grimm et al., 2008](#); [Sih et al., 2011](#)). The presence and abundance of small mammal species along the urbanization gradient enabled to classify them into the three classically defined categories. i) The urban avoiders, *G. glis*, *M. agrestis*, *S. araneus*, *S. coronatus*, *N. fodiens*, and *C. leucodon*, which were only found in rural forests and had low abundance. ii) The urban adapters, *A. sylvaticus*, *M. glareolus*, and *A. flavicollis*, which were present in most types of forests. iii) The urban dweller species, *R. norvegicus*, *M. musculus*, and *C. russula*, which were found exclusively in cities. These categories may result from different ecology and life-history traits of small mammals, leading to the ability to adapt or not to the rapid and unfavorable changes associated with urbanization (e.g. habitat fragmentation and pollution, [Grimm et al., 2008](#)). Besides, urbanization can offer abundant and continuous resources, as well as new refuges, which can lead to the coexistence of adapter and urban dweller species ([Chamberlain et al., 2009](#); [Ofori et al., 2018](#)). In our study, this resulted in a maximum diversity and composition of small mammal communities observed in the peri-urban park FRPDLL. This pattern has already been shown in other countries (e.g. [Grade et al., 2022](#)) and aligns with the intermediate disturbance hypothesis proposed by Connell ([Sheil & Burslem, 2013](#)).

### 4.2 Host species-driven flexibility of the gut microbiota: the influence of categories of urbanization response

Our findings showed that species identity was a foremost determinant of GM diversity and composition. As noted by [Kohl \(2020\)](#), the GM exhibited inter-individual variation but remains relatively conserved based on the identity of the host species. Such phylosymbiosis (observed concordance between the GM and the host species) has already been described in former studies on sympatric species of small mammals ([Knowles et al., 2019](#); [Weinstein et al., 2021](#)).

Despite this undeniable role of host phylogeny in microbial structure, our results emphasized significant variations in the diversity and composition of the GM among different species categories, reflecting their responses to urbanization. Specifically, we observed that the structure of gut microbiota differed between categories, but were similar within each category. The urban dweller species showed a distinct microbial composition from the dweller species. *Apodemus spp* (family *Muridae*) had a microbial composition closer to *M. glareolus* (family *Cricetidae*) than to its close relatives (e.g. *R. norvegicus* and *M. musculus*, family *Muridae*). [Varudkar & Ramakrishnan \(2018\)](#) previously reported a similar pattern while comparing the GM of two phylogenetically related rats in rural and urban habitats. Habitat emerged as the main predictor of GM diversity and composition. More studies are now required to corroborate the strong impact of responses to urbanization on inter-specific differences in GM, and to determine the relative influences of deterministic and stochastic processes in shaping this microbial community in wildlife.

#### *4.3 Stochasticity, a major process shaping microbial diversity and composition in urban dweller and dweller species*

Our study highlighted the influence of distinct ecological processes on the GM diversity and composition of urban dweller vs dweller species. Urban dweller species had higher levels of intraspecific variance in their GM composition than dweller species. This may be due to larger ecological niche, for example with differences in diet between urban and rural areas, as has been reported in coyotes ([Sugden et al., 2020](#)). In rural forests, small mammals mainly eat seeds, fruits, and insects, whereas in urban areas, they may have access to a wider range of food sources such as garbage and pet food. However, other factors beyond diet may also be at play, as this pattern of GM variance was observed even when species were found in sympatry and potentially sharing their resources and habitats. For instance, the variance in the GM composition of wood mice was lower than that of house mice and rats, even when only considering the highly anthropized urban park FRPLTO.

Our results provided several evidence for a strong influence of stochastic processes on the GM diversity and composition of urban dweller species. Indeed, we found no strong evidence of bacterial competition or environmental filtering mediating GM composition. We demonstrated that stochasticity was more important than expected in the assembly and renewal of their GM.

High variance of the GM in these species could thus reflect the deregulation of the bacterial composition and dysbiosis, with individuals acquiring different microbiota due to stochastic processes ([Zaneveld et al., 2017](#)). Although this phenomenon has already been observed in urban environments ([Stothart & Newman, 2021](#); [Sugden et al., 2020](#)), it remains important in the future to investigate how this stochasticity and high variance in GM composition impact the physiology, health and fitness of small mammal species.

In addition, we detected higher levels of functional richness and lower levels of functional redundancy in urban dwellers compared to adapter species. Dweller species had a GM that consisted of a small number of specialized taxa with unique functions. The GM diversity and composition might hence have contributed to the specialization of these dweller species to urban environments ([Moeller & Sanders, 2020](#)). For instance, the urban dweller species showed a lower representation of Muribaculaceae and Rikenellaceae bacteria (as seen in mice fed with low fiber diet, e.g. [Wang et al., 2020](#)) and an over-representation of Helicobacteraceae, as previously found in mice fed a high-fat diet ([Ali Irshad Koh Young-Sang, 2015](#)). We also observed a higher representation of several enzymes and metabolic pathways in dwellers compared to urban adapter species. These functions could play critical role in urban dweller species adaptation in cities, in particular by counteracting the damaging anthropogenic pressures encountered in such disturbed environment. As such, in humans, genes encoding for hydrolases are overexpressed in cities, and some of the metabolic functions related to these enzymes are involved in the regulation of cardiovascular diseases, inflammatory responses and neurological diseases ([Morisseau, 2022](#)). In cities, GM may have enabled urban dwellers to settle and persist while being "sick".

The gut microbiota (GM) of the urban avoider species studied here, the soricomorph *Crocidura leucodon*, exhibited similar patterns (low alpha diversity, high inter-individual variance in GM composition) driven by the same processes (low levels of bacterial competition and functional redundancy, high rate of stochasticity) than other urban dweller species, in particular the phylogenetically close *C. russula*. This similarity may stem from ecological specialization rather than urban adaptation (e.g. Zepeda [Mendoza et al., 2018](#)). The GM may play a role in the expansion or specialization of the host niche, known as the extended phenotype ([Nougué et al., 2015](#)). In this study, *C. leucodon* was trapped in a single forest. As it habits open woodland

environments and agricultural areas, it would be interesting to investigate the ability of this urban avoider species to resist or respond to rapid environmental changes, as those experienced due to climatic and anthropogenic changes.

#### *4.4 Variable influence of ecological processes in shaping the gut microbiota of urban adapter species in response to urbanization*

We next focused on urban adapter species and investigated GM flexibility along the urbanization gradient. We revealed an impact of urbanization on GM diversity and composition, as previously described for other mammals (e.g. [Stothart et al., 2019](#); [Sugden et al., 2020](#)).

We observed a slight increase in GM diversity and composition with urbanization in the adapter species *Apodemus flavicollis* and *Myodes glareolus*. Higher values of GM diversity and marked differences in GM composition were observed in the peri-urban park FRPDLL compared to forests.

The patterns for taxonomic richness were less pronounced when considering the Shannon index, meaning that changes in bacterial diversity were mainly driven by the presence of rare species. These results were congruent with the observed changes in small mammal communities associated with urbanization. This could suggest a potential cascading effect of changes in host communities on host microbial communities, or a similar impact of environmental disturbance on both communities with higher species diversity maintained in environments with intermediate disturbance (Intermediate Disturbance Hypothesis, Connell, 1978; [Willig & Presley, 2018](#)). Changes in the resources available in the environment associated with anthropization could for example lead to greater microbial diversity and larger ecological niche ([Weinstein et al., 2021](#)).

These patterns were also less marked when comparing results obtained from functions and from taxonomy. Besides, we provided evidence for higher levels of functional redundancy and stochasticity in urban parks than in forests, although this result was less marked for *A. sylvaticus*. We have detected signals of phylogenetic clustering resulting from strong bacterial filtering ([Webb et al., 2002](#)). When a species of bacteria cannot fulfill a specific function due to unfavorable environmental conditions, another species or group can step in. This ensures the



stability of essential functions ([Konopka, 2009](#)). However, if this functional redundancy becomes excessive, particularly due to intense environmental selection, it could lead to a homogenization of functions, making the microbiome less resilient to unexpected environmental changes. This urban homogenization has been observed in urban microbial soil ([Delgado-Baquerizo et al., 2021](#)). Lastly, the relative importance of selection in shaping the GM of these urban adapter species was slightly higher in forests than in parks, and we detected changes in enzymes and metabolic pathways along the gradient of urbanization, some of them being shared by at least two of these rodent species (e.g. PWY.5005, PWY.6628 or hydrolases ester bonds for *M. glareolus* and *A. sylvaticus*) and other being specific.

Altogether, these results indicated that the GM diversity and composition of urban adapter species are quite stable along a forest gradient of urbanization. Surprisingly, we found no evidence of dysbiosis in urban sites for these species, contrary to what could have been expected from other studies (e.g. for the spiny rat *Proechimys semispinosus*, [Fackelmann et al., 2021](#)). This suggests GM resistance or resilience ([Moya & Ferrer, 2016b](#); [Sommer et al., 2017](#)) in the face of such environmental changes ([Alberdi et al., 2016](#); [Moeller & Sanders, 2020](#); [Voolstra & Ziegler, 2020b](#)), with the impact of stochasticity being dampened by functional redundancy ([Moya & Ferrer, 2016b](#); [Sommer et al., 2017](#)). Temporal surveys would be necessary to corroborate this effect of urbanization on GM dynamics and evolution in urban adapter species, and to better understand how these responses to urbanization may affect their fitness.

### Conclusions

This study corroborated the strong interlinkages existing between small mammal communities and their GM, that might change with hosts' and abiotic features. As such, feedback loops might occur between host communities and their microbiota in response to environmental perturbations ([Miller et al., 2018](#); [Moorhead et al., 2017](#)). In particular, urbanization seemed to impact the diversity and composition of GM differently, either as a cause or a consequence of the host species' ability to cope with environmental changes. Further research should be conducted to investigate these relationships and their impact on the health and susceptibility to pathogens of small mammals, as they are significant reservoirs of zoonotic agents and frequently come into contact with humans in urban areas.

## Funding

This research was funded through the 2018-2019 BiodivERsA joint call for research proposals, under the BiodivERsA3 ERA-Net COFUND programme, and with the funding organization ANR.

## CRedit authorship contribution statement

MB: Conceptualization; Investigation; Data curation; Formal analysis; Methodology; Visualization; Writing - original draft

MG: Conceptualization; Methodology; Investigation; Supervision; Data curation; Formal analysis; Writing - review & editing

JP: Data curation; Resources

JF: Formal analysis; Resources

RG: Formal analysis; Writing - review & editing

AL: Formal analysis

BR: Conceptualization; Funding acquisition; Methodology; Supervision; Validation; Writing - review & editing

NC: Project administration; Conceptualization; Funding acquisition; Methodology; Supervision; Validation; Writing - review & editing

## Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have influenced the work reported in this paper.

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary material

## Data availability

Raw data and scripts are available on zenodo repository (<https://zenodo.org/record/8143272>)

## Acknowledgments

We are grateful to all people that helped for field assistance, and to S. Piry for his help with data curation. We also thank J.F. Martin for his help with bioinformatics and microbiota analyses. Data used in this work were partly produced at the GENSEQ platform through the genotyping and sequencing facilities of ISEM (Institut des Sciences de l'Evolution-Montpellier) and Labex CeMEB (Centre Méditerranéen Environnement Biodiversité).

## F. References

1. Alberdi, A., Aizpurua, O., Bohmann, K., Zepeda-Mendoza, M. L., & Gilbert, M. T. P. (2016). Do Vertebrate Gut Metagenomes Confer Rapid Ecological Adaptation? *Trends in Ecology & Evolution*, 31(9), 689–699. doi:10.1016/J.TREE.2016.06.008  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
2. Alberdi, A., & Gilbert, M. T. P. (2019). A guide to the application of Hill numbers to DNA-based diversity analyses. *Molecular Ecology Resources*, 19(4), 804–817. doi:10.1111/1755-0998.13014  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
3. Ali Irshad Koh Young-Sang. (2015). High-fat-diet-modulated Gut Microbiota Promotes Intestinal Carcinogenesis. *Jbv*, 45(4), 394–396. doi:10.4167/jbv.2015.45.4.394  
[CrossRefGoogle Scholar](#)

4. Aplin, K. P., Brown, P. R., Jacob, J., Krebs, C. J., & Singleton, G. R. (2003). *Field methods for rodent studies in Asia and the Indo-Pacific*. Monographs. doi:10.22004/AG.ECON.114053  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
5. Barnett, S. E., Youngblut, N. D., & Buckley, D. H. (2020). Soil characteristics and land-use drive bacterial community assembly patterns. *FEMS Microbiology Ecology*, 96(1), 194. doi:10.1093/FEMSEC/FIZ194  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
6. Belkaid, Y., & Hand, T. W. (2014). Role of the Microbiota in Immunity and Inflammation. *Cell*, 157(1), 121–141. doi:10.1016/J.CELL.2014.03.011  
[CrossRefPubMedWeb of ScienceGoogle Scholar](#)
7. Bolyen, E., Rideout, J. R., Dillon, M. R., Bokulich, N. A., Abnet, C. C., Al-Ghalith, G. A., Alexander, H., Alm, E. J., Arumugam, M., Asnicar, F., Bai, Y., Bisanz, J. E., Bittinger, K., Brejnrod, A., Brislawn, C. J., Brown, C. T., Callahan, B. J., Caraballo-Rodríguez, A. M., Chase, J., ... Caporaso, J. G. (2019). Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology* 2019 37:8, 37(8), 852–857. doi:10.1038/s41587-019-0209-9  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
8. Bonder, M. J., Kurilshikov, A., Tigchelaar, E. F., Mujagic, Z., Imhann, F., Vila, A. V., Deelen, P., Vatanen, T., Schirmer, M., Smeekens, S. P., Zhernakova, D. V., Jankipersadsing, S. A., Jaeger, M., Oosting, M., Cenit, M. C., Masclee, A. A. M., Swertz, M. A., Li, Y., Kumar, V., ... Zhernakova, A. (2016). The effect of host genetics on the gut microbiome. *Nature Genetics* 2016 48:11, 48(11), 1407–1412. doi:10.1038/ng.3663  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
9. Boulangé, C. L., Neves, A. L., Chilloux, J., Nicholson, J. K., & Dumas, M. E. (2016). Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. *Genome Medicine*, 8(1), 1–12. doi:10.1186/S13073-016-0303-2/FIGURES/4  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
10. Brooks, A. W., Kohl, K. D., Brucker, R. M., Opstal, E. J. van, & Bordenstein, S. R. (2016). *Phylosymbiosis: Relationships and Functional Effects of Microbial Communities across Host Evolutionary History*. *PLOS Biology*, 14(11), e2000225. doi:10.1371/JOURNAL.PBIO.2000225  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
11. Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 581. doi:10.1038/NMETH.3869  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
12. Caspi, R., Altman, T., Billington, R., Dreher, K., Foerster, H., Fulcher, C. A., Holland, T. A., Keseler, I. M., Kothari, A., Kubo, A., Krummenacker, M., Latendresse, M., Mueller, L. A., Ong, Q., Paley, S., Subhraveti, P., Weaver, D. S., Weerasinghe, D., Zhang, P., & Karp, P. D. (2014). The MetaCyc database of metabolic pathways and enzymes and the BioCyc collection of Pathway/Genome Databases. *Nucleic Acids Research*, 42(D1), D459–D471. doi:10.1093/NAR/GKT1103  
[CrossRefPubMedWeb of ScienceGoogle Scholar](#)
13. Chamberlain, D. E., Cannon, A. R., Toms, M. P., Leech, D. I., Hatchwell, B. J., & Gaston, K. J. (2009). Avian productivity in urban landscapes: a review and meta-analysis. *Ibis*, 151(1), 1–18. doi:10.1111/J.1474-919X.2008.00899.X  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
14. Chapuis, M. P., Benoit, L., & Galan, M. (2023). Evaluation of 96-well high-throughput DNA extraction methods for 16S rRNA gene metabarcoding. *Molecular Ecology Resources*. doi:10.1111/1755-0998.13812  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
15. CORINE Land Cover | Données et études statistiques. (n.d.). Retrieved June 10, 2022, from <https://www.statistiques.developpement-durable.gouv.fr/corine-land-cover-0>  
[Google Scholar](#)

16. Czech, B., Krausman, P., BioScience, P. D., & 2000, undefined. (2000). *Economic associations among causes of species endangerment in the United States: associations among causes of species endangerment in the United States*. Academic.Oup.Com.  
<https://academic.oup.com/bioscience/article-abstract/50/7/593/354580>  
[Google Scholar](#)
17. Delgado-Baquerizo, M., Eldridge, D. J., Liu, Y. R., Sokoya, B., Wang, J. T., Hu, H. W., He, J. Z., Bastida, F., Moreno, J. L., Bamigboye, A. R., Blanco-Pastor, J. L., Cano-Díaz, C., Illán, J. G., Makhallanyane, T. P., Siebe, C., Trivedi, P., Zaady, E., Verma, J. P., Wang, L., ... Fierer, N. (2021). *Global homogenization of the structure and function in the soil microbiome of urban greenspaces*. *Science Advances*, 7(28).  
doi:10.1126/SCIADV.ABG5809/SUPPL\_FILE/ABG5809\_TABLE\_S3.XLS X  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
18. Douglas, G. M., Beiko, R. G., & Langille, M. G. I. (2018). *Predicting the Functional Potential of the Microbiome from Marker Genes Using PICRUSt*. *Methods in Molecular Biology*, 1849, 169–177. doi:10.1007/978-1-4939-8728-3\_11  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
19. Drew, G. C., & King, K. C. (2022). *More or Less? The Effect of Symbiont Density in Protective Mutualisms*. *The American Naturalist*, 199(4). doi:10.1086/718593  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
20. Dri, G. F., Fontana, C. S., & Dambros, C. de S. (2021). *Estimating the impacts of habitat loss induced by urbanization on bird local extinctions*. *Biological Conservation*, 256, 109064. doi:10.1016/J.BIOCON.2021.109064  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
21. Escudié, F., Auer, L., Bernard, M., Mariadassou, M., Cauquil, L., Vidal, K., Maman, S., Hernandez-Raquet, G., Combes, S., & Raldine Pascal, G. (2018). *FROGS: Find, Rapidly, OTUs with Galaxy Solution*. doi:10.1093/bioinformatics/btx791  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
22. Ezenwa, V. O., Gerardo, N. M., Inouye, D. W., Medina, M., & Xavier, J. B. (2012). *Animal Behavior and the Microbiome*. *Science*, 338(6104), 198–199. doi:10.1126/SCIENCE.1227412  
[Abstract/FREE Full TextGoogle Scholar](#)
23. Fackelmann, G., F Gillingham, M. A., Schmid, J., Christoph Heni, A., Wilhelm, K., Schwensow, N., & Sommer, S. (2021). *Human encroachment into wildlife gut microbiomes*. doi:10.1038/s42003-021-02315-7  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
24. Faeth, S. H., Bang, C., & Saari, S. (2011). *Urban biodiversity: patterns and mechanisms*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1223(1), 69–81. doi:10.1111/J.1749-6632.2010.05925.X  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
25. Fischer, J. D., Schneider, S. C., Ahlers, A. A., & Miller, J. R. (2015). *Categorizing wildlife responses to urbanization and conservation implications of terminology*. *Conservation Biology*, 29(4), 1246–1248. doi:10.1111/COBI.12451  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
26. Galan, M., Razzauti, M., Bard, E., Bernard, M., Brouat, C., Charbonnel, N., Dehne-Garcia, A., Loiseau, A., Tatard, C., Tamisier, L., Vayssier-Taussat, M., Vignes, H., & Cosson, J.-F. (2016). *16S rRNA Amplicon Sequencing for Epidemiological Surveys of Bacteria in Wildlife*. *MSystems*, 1(4), 1–22. doi:10.1128/msystems.00032-16  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
27. Goertz, S., de Menezes, A. B., Birtles, R. J., Fenn, J., Lowe, A. E., MacColl, A. D. C., Poulin, B., Young, S., Bradley, J. E., & Taylor, C. H. (2019). *Geographical location influences the composition of the gut microbiota in wild house mice (Mus musculus domesticus) at a fine spatial scale*. *PLoS ONE*, 14(9). doi:10.1371/journal.pone.0222501  
[CrossRefGoogle Scholar](#)

28. Grade, A. M., Warren, P. S., & Lerman, S. B. (2022). *Managing yards for mammals: Mammal species richness peaks in the suburbs*. *Landscape and Urban Planning*, 220, 104337. doi:10.1016/J.LANDURBPLAN.2021.104337  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
29. Grimm, N. B., Faeth, S. H., Golubiewski, N. E., Redman, C. L., Wu, J., Bai, X., & Briggs, J. M. (2008). *Global change and the ecology of cities*. *Science*, 319(5864), 756–760. doi:10.1126/SCIENCE.1150195/SUPPL\_FILE/GRIMM.SOM.REV.PDF  
[Abstract/FREE Full TextGoogle Scholar](#)
30. Hartig, F. (2022). *Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level / Mixed) Regression Models [R package DHARMA version 0.4.6]*. <https://cran.r-project.org/package=DHARMA>  
[Google Scholar](#)
31. Hesselbarth, M. H. K., Sciaini, M., With, K. A., Wiegand, K., & Nowosad, J. (2019). *landscapemetrics: an open-source R tool to calculate landscape metrics*. *Ecography*, 42(10), 1648–1657. doi:10.1111/ECOG.04617  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
32. Hoffman, G. E., & Schadt, E. E. (2016). *variancePartition: Interpreting drivers of variation in complex gene expression studies*. *BMC Bioinformatics*, 17(1), 1–13. doi:10.1186/S12859-016-1323-Z/FIGURES/5  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
33. Hothorn, T., Bretz, F., & Westfall, P. (2008). *Simultaneous Inference in General Parametric Models*. *Biometrical Journal*, 50(3), 346–363.  
[CrossRefPubMedWeb of ScienceGoogle Scholar](#)
34. Johnson, J. B., & Omland, K. S. (2004). *Model selection in ecology and evolution*. *Trends in Ecology and Evolution*, 19(2), 101–108. doi:10.1016/J.TREE.2003.10.013  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
35. Johnson, M. T. J., & Munshi-South, J. (2017). *Evolution of life in urban environments*. In *Science* (Vol. 358, Issue 6363). American Association for the Advancement of Science. doi:10.1126/science.aam8327  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
36. Karger, D. N., Conrad, O., Böhrer, J., Kawohl, T., Kreft, H., Soria-Auza, R. W., Zimmermann, N. E., Linder, H. P., & Kessler, M. (2017). *Climatologies at high resolution for the earth's land surface areas*. *Scientific Data*, 4. doi:10.1038/SDATA.2017.122  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
37. Kassambara, A. (2022). *Pipe-Friendly Framework for Basic Statistical Tests [R package rstatix version 0.7.1]*. <https://cran.r-project.org/package=rstatix>  
[Google Scholar](#)
38. Katoh, K., Misawa, K., Kuma, K. I., & Miyata, T. (2002). *MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform*. *Nucleic Acids Research*, 30(14), 3059–3066. doi:10.1093/NAR/GKF436  
[CrossRefPubMedWeb of ScienceGoogle Scholar](#)
39. Kembel, S. W., Cowan, P. D., Helmus, M. R., Cornwell, W. K., Morlon, H., Ackerly, D. D., Blomberg, S. P., & Webb, C. O. (2010). *Picante: R tools for integrating phylogenies and ecology*. *Bioinformatics*, 26(11), 1463–1464. doi:10.1093/BIOINFORMATICS/BTQ166  
[CrossRefPubMedWeb of ScienceGoogle Scholar](#)
40. Kircher, M., Sawyer, S., & Meyer, M. (2012). *Double indexing overcomes inaccuracies in multiplex sequencing on the Illumina platform*. *Nucleic Acids Research*, 40(1), e3–e3. doi:10.1093/NAR/GKR771  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
41. Knowles, S. C. L., Eccles, R. M., & Baltrūnaitė, L. (2019). *Species identity dominates over environment in shaping the microbiota of small mammals*. *Ecology Letters*, 22(5), 826–837. doi:10.1111/ELE.13240  
[CrossRefGoogle Scholar](#)

42. Kohl, K. D. (2020). Ecological and evolutionary mechanisms underlying patterns of phyllosymbiosis in host-associated microbial communities. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 375(1798). doi:10.1098/RSTB.2019.0251  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
43. Konopka, A. (2009). What is microbial community ecology? *The ISME Journal* 2009 3:11, 3(11), 1223–1230. doi:10.1038/ismej.2009.88  
[CrossRefPubMedWeb of ScienceGoogle Scholar](#)
44. Kozich, J. J., Westcott, S. L., Baxter, N. T., Highlander, S. K., & Schloss, P. D. (2013). Development of a Dual-Index Sequencing Strategy and Curation Pipeline for Analyzing Amplicon Sequence Data on the MiSeq Illumina Sequencing Platform. doi:10.1128/AEM.01043-13  
[Abstract/FREE Full TextGoogle Scholar](#)
45. Lambert, M. R., Brans, K. I., Des Roches, S., Donihue, C. M., & Diamond, S. E. (2021). Adaptive Evolution in Cities: Progress and Misconceptions. *Trends in Ecology & Evolution*, 36(3), 239–257. doi:10.1016/J.TREE.2020.11.002  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
46. Lamothe, K. A., Alofs, K. M., Jackson, D. A., & Somers, K. M. (2018). Functional diversity and redundancy of freshwater fish communities across biogeographic and environmental gradients. *Diversity and Distributions*, 24(11), 1612–1626. doi:10.1111/DDI.12812  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
47. Larsen, O. F. A., & Claassen, E. (2018). The mechanistic link between health and gut microbiota diversity. *Scientific Reports* 2018 8:1, 8(1), 1–5. doi:10.1038/s41598-018-20141-6  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
48. Lavrinienko, A., Hämäläinen, A., Hindström, R., Tukalenko, E., Boratyński, Z., Kivisaari, K., Mousseau, T. A., Watts, P. C., & Mappes, T. (2021). Comparable response of wild rodent gut microbiome to anthropogenic habitat contamination. *Molecular Ecology*, 00, 1–15. doi:10.1111/mec.15945  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
49. Lê, S., Josse, J., & Husson, F. (2008). {FactoMineR}: A Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software*, 25(1), 1–18. doi:10.18637/jss.v025.i01  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
50. Li, G., Fang, C., Li, Y., Wang, Z., Sun, S., He, S., Qi, W., Bao, C., Ma, H., Fan, Y., Feng, Y., & Liu, X. (2022). Global impacts of future urban expansion on terrestrial vertebrate diversity. *Nature Communications* 2022 13:1, 13(1), 1–12. doi:10.1038/s41467-022-29324-2  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
51. Li, H., Yang, E., Zhang, S., Zhang, J., Yuan, L., Liu, R., Ullah, S., Wang, Q., Mushtaq, N., Shi, Y., An, C., Wang, Z., & Xu, J. (2020). Molecular characterization of gut microbial shift in SD rats after death for 30 days. *Archives of Microbiology* 2020 202:7, 202(7), 1763–1773. doi:10.1007/S00203-020-01889-W  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
52. Lowry, H., Lill, A., & Wong, B. B. M. (2013). Behavioural responses of wildlife to urban environments. *Biological Reviews*, 88(3), 537–549. doi:10.1111/BRV.12012  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
53. McKnight, D. T., Huerlimann, R., Bower, D. S., Schwarzkopf, L., Alford, R. A., & Zenger, K. R. (2019). Methods for normalizing microbiome data: An ecological perspective. *Methods in Ecology and Evolution*, 10(3), 389–400. doi:10.1111/2041-210X.13115  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
54. McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2013). phyloseq: An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PLoS ONE*, 8(4), e61217. <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0061217>  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)



55. Miller, E. T., Svanbäck, R., & Bohannan, B. J. M. (2018). *Microbiomes as Metacommunities: Understanding Host-Associated Microbes through Metacommunity Ecology*. *Trends in Ecology and Evolution*, 33(12), 926–935. doi:10.1016/j.tree.2018.09.002  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
56. Moeller, A. H., & Sanders, J. G. (2020). *Roles of the gut microbiota in the adaptive evolution of mammalian species*. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 375(1808). doi:10.1098/RSTB.2019.0597  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
57. Moll, R. J., Cepek, J. D., Lorch, P. D., Dennis, P. M., Tans, E., Robison, T., Millspaugh, J. J., & Montgomery, R. A. (2019). *What does urbanization actually mean? A framework for urban metrics in wildlife research*. *Journal of Applied Ecology*, 56(5), 1289–1300. doi:10.1111/1365-2664.13358  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
58. Moorhead, L. C., Souza, L., Habeck, C. W., Lindroth, R. L., & Classen, A. T. (2017). *Small mammal activity alters plant community composition and microbial activity in an old-field ecosystem*. *Ecosphere*, 8(5), e01777. doi:10.1002/ECS2.1777  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
59. Morisseau, C. (2022). *The Role of Hydrolases in Biology and Xenobiotics Metabolism*. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9). doi:10.3390/IJMS23094870  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
60. Moya, A., & Ferrer, M. (2016). *Functional Redundancy-Induced Stability of Gut Microbiota Subjected to Disturbance*. In *Trends in Microbiology* (Vol. 24, Issue 5, pp. 402–413). doi:10.1016/j.tim.2016.02.002  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
61. Moya, A., & Ferrer, M. (2016b). *Functional Redundancy-Induced Stability of Gut Microbiota Subjected to Disturbance*. *Trends in Microbiology*, 24(5), 402–413. doi:10.1016/j.tim.2016.02.002  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
62. Nougé, O., Gallet, R., Chevin, L. M., & Lenormand, T. (2015). *Niche Limits of Symbiotic Gut Microbiota Constrain the Salinity Tolerance of Brine Shrimp*. doi:10.1086/682370, 186(3), 390–403. 10.1086/682370  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
63. Nyangale, E. P., Mottram, D. S., & Gibson, G. R. (2012). *Gut microbial activity, implications for health and disease: The potential role of metabolite analysis*. In *Journal of Proteome Research*. doi:10.1021/pr300637d  
[CrossRefPubMedWeb of ScienceGoogle Scholar](#)
64. Ofori, B. Y., Garshong, R. A., Gbogbo, F., Owusu, E. H., & Attuquayefio, D. K. (2018). *Urban green area provides refuge for native small mammal biodiversity in a rapidly expanding city in Ghana*. *Environmental Monitoring and Assessment*, 190(8). doi:10.1007/S10661-018-6858-1  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
65. Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., Minchin, P. R., O'Hara, R. B., Simpson, G. L., Solymos, P., Stevens, M. H. H., Szoecs, E., & Wagner, H. (2020). *vegan: Community Ecology Package*. <https://cran.r-project.org/package=vegan>  
[Google Scholar](#)
66. Parmesan, C. (2006). *Ecological and evolutionary responses to recent climate change*. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 37, 637–669. doi:10.1146/ANNUREV.ECOLSYS.37.091305.110100  
[CrossRefWeb of ScienceGoogle Scholar](#)
67. Pradel, J., Bouilloud, M., Loiseau, A., Piry, S., Galan, M., Artige, E., Castel, G., Ferrero, J., Gallet, R., Thuel, G., Vieira, N., & Charbonnel, N. (2022). *Small terrestrial mammals (Rodentia and Soricomorpha) along a gradient of forest anthropization (reserves, managed forests, urban parks) in France*. *ARPHA Preprints*, 3, e95662-. doi:10.3897/ARPHAPREPRINTS.E95662

- [CrossRefGoogle Scholar](#)
68. Price, M. N., Dehal, P. S., & Arkin, A. P. (2009). *FastTree: Computing Large Minimum Evolution Trees with Profiles instead of a Distance Matrix*. *Molecular Biology and Evolution*, 26(7), 1641–1650. doi:10.1093/MOLBEV/MSP077  
[CrossRefPubMedWeb of ScienceGoogle Scholar](#)
69. R Core Team. (2020). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*.  
<https://www.r-project.org/>  
[Google Scholar](#)
70. Rivkin, L. R., Santangelo, J. S., Alberti, M., Aronson, M. F. J., de Keyzer, C. W., Diamond, S. E., Fortin, M. J., Frazee, L. J., Gorton, A. J., Hendry, A. P., Liu, Y., Losos, J. B., MacIvor, J. S., Martin, R. A., McDonnell, M. J., Miles, L. S., Munshi-South, J., Ness, R. W., Newman, A. E. M., ... Johnson, M. T. J. (2019). *A roadmap for urban evolutionary ecology*. *Evolutionary Applications*, 12(3), 384–398. doi:10.1111/EVA.12734  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
71. Roswell, M., Dushoff, J., & Winfree, R. (2021). *A conceptual guide to measuring species diversity*. *Oikos*, oik.07202. doi:10.1111/oik.07202  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
72. Rowland, I., Gibson, G., Heinken, A., Scott, K., Swann, J., Thiele, I., & Tuohy, K. (2017). *Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components*. *European Journal of Nutrition* 2017 57:1, 57(1), 1–24. doi:10.1007/S00394-017-1445-8  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
73. Šálek, M., Drahníková, L., & Tkadlec, E. (2015). *Changes in home range sizes and population densities of carnivore species along the natural to urban habitat gradient*. *Mammal Review*, 45(1), 1–14. doi:10.1111/MAM.12027/SUPPINFO  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
74. Santini, L., González-Suárez, M., Russo, D., Gonzalez-Voyer, A., von Hardenberg, A., & Ancillotto, L. (2019). *One strategy does not fit all: determinants of urban adaptation in mammals*. *Ecology Letters*, 22(2), 365–376. doi:10.1111/ELE.13199  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
75. Santoro, A., Ostan, R., Candela, M., Biagi, E., Brigidi, P., Capri, M., & Franceschi, C. (2017). *Gut microbiota changes in the extreme decades of human life: a focus on centenarians*. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2017 75:1, 75(1), 129–148. doi:10.1007/S00018-017-2674-Y  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
76. Shapira, M. (2016). *Gut Microbiotas and Host Evolution: Scaling Up Symbiosis*. *Trends in Ecology & Evolution*, 31(7), 539–549. doi:10.1016/J.TREE.2016.03.006  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
77. Sheil, D., & Burslem, D. F. R. P. (2013). *Defining and defending Connell’s intermediate disturbance hypothesis: a response to Fox*. *Trends in Ecology & Evolution*, 28(10), 571–572. doi:10.1016/J.TREE.2013.07.006  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
78. Sih, A., Ferrari, M. C. O., & Harris, D. J. (2011). *Evolution and behavioural responses to human-induced rapid environmental change*. *Evolutionary Applications*, 4(2), 367–387. doi:10.1111/J.1752-4571.2010.00166.X  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
79. Slatyer, R. A., Hirst, M., & Sexton, J. P. (2013). *Niche breadth predicts geographical range size: a general ecological pattern*. *Ecology Letters*, 16(8), 1104–1114. doi:10.1111/ELE.12140  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
80. Sol, D., Bartomeus, I., González-Lagos, C., & Pavoine, S. (2017). *Urbanisation and the loss of phylogenetic diversity in birds*. *Ecology Letters*, 20(6), 721–729. doi:10.1111/ele.12769i  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)



81. Solari, S., & Baker, R. J. (2007). *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference* by D. E. Wilson; D. M. Reeder. *Journal of Mammalogy*, 88(3), 824–830.  
doi:10.1644/06-MAMM-R-422.1  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
82. Sommer, F., Anderson, J. M., Bharti, R., Raes, J., & Rosenstiel, P. (2017). The resilience of the intestinal microbiota influences health and disease. In *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 15, Issue 10, pp. 630–638). Nature Publishing Group. doi:10.1038/nrmicro.2017.58  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
83. Stegen, J. C., Lin, X., Fredrickson, J. K., Chen, X., Kennedy, D. W., Murray, C. J., Rockhold, M. L., & Konopka, A. (2013). Quantifying community assembly processes and identifying features that impose them. *The ISME Journal* 2013 7:11, 7(11), 2069–2079. doi:10.1038/ismej.2013.93  
[CrossRefPubMedWeb of ScienceGoogle Scholar](#)
84. Stothart, M. R., & Newman, A. E. M. (2021). Shades of grey: host phenotype dependent effect of urbanization on the bacterial microbiome of a wild mammal. *Animal Microbiome*, 3(1). doi:10.1186/S42523-021-00105-4  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
85. Stothart, M. R., Palme, R., & Newman, A. E. M. (2019). It's what's on the inside that counts: Stress physiology and the bacterial microbiome of a wild urban mammal. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 286(1913). doi:10.1098/rspb.2019.2111  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
86. Sugden, S., Sanderson, D., Ford, K., Stein, L. Y., & St. Clair, C. C. (2020). An altered microbiome in urban coyotes mediates relationships between anthropogenic diet and poor health. *Scientific Reports* 2020 10:1, 10(1), 1–14. doi:10.1038/s41598-020-78891-1  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
87. Taudière, A. (2022). *MiscMetabar: Miscellaneous functions for metabarcoding analysis*.  
<https://github.com/adrietaudiere/MiscMetabar>  
[Google Scholar](#)
88. Teng, Y., Yang, X., Li, G., Zhu, Y., & Zhang, Z. (2022). Habitats Show More Impacts Than Host Species in Shaping Gut Microbiota of Sympatric Rodent Species in a Fragmented Forest. *Frontiers in Microbiology*, 13, 42. doi:10.3389/FMICB.2022.811990/BIBTEX  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
89. Teyssier, A., Rouffaer, L. O., Saleh Hudin, N., Strubbe, D., Matthysen, E., Lens, L., & White, J. (2018). Inside the guts of the city: Urban-induced alterations of the gut microbiota in a wild passerine. *The Science of the Total Environment*, 612, 1276–1286. doi:10.1016/J.SCITOTENV.2017.09.035  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
90. Thompson, M. J., Capilla-Lasheras, P., Dominoni, D. M., Réale, D., & Charmantier, A. (2022). Phenotypic variation in urban environments: mechanisms and implications. *Trends in Ecology & Evolution*, 37(2), 171–182. doi:10.1016/J.TREE.2021.09.009  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
91. Tucker, M. A., Santini, L., Carbone, C., & Mueller, T. (2021). Mammal population densities at a global scale are higher in human-modified areas. *Ecography*, 44(1), 1–13. doi:10.1111/ECOG.05126  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
92. Varudkar, A., & Ramakrishnan, U. (2018). Gut microflora may facilitate adaptation to anthropic habitat: A comparative study in *Rattus*. *Ecology and Evolution*, 8(13), 6463–6472. doi:10.1002/ECE3.4040  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
93. Verrelli, B. C., Alberti, M., Des Roches, S., Harris, N. C., Hendry, A. P., Johnson, M. T. J., Savage, A. M., Charmantier, A., Gotanda, K. M., Govaert, L., Miles, L. S., Rivkin, L. R., Winchell, K. M., Brans, K. I., Correa, C., Diamond, S. E., Fitzhugh, B., Grimm, N. B., Hughes, S., ... Ziter, C. (2022).

- A global horizon scan for urban evolutionary ecology. Trends in Ecology & Evolution, 37(11), 1006–1019. doi:10.1016/J.TREE.2022.07.012*  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
94. Voolstra, C. R., & Ziegler, M. (2020a). Adapting with Microbial Help: Microbiome Flexibility Facilitates Rapid Responses to Environmental Change. *BioEssays, 42(7), 2000004.*  
 doi:10.1002/BIES.202000004  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
95. Walter, J., & Ley, R. (2011). The human gut microbiome: ecology and recent evolutionary changes. *Annual Review of Microbiology, 65, 411–429. doi:10.1146/ANNUREV-MICRO-090110-102830*  
[CrossRefPubMedWeb of ScienceGoogle Scholar](#)
96. Wang, B., Kong, Q., Li, X., Zhao, J., Zhang, H., Chen, W., & Wang, G. (2020). A High-Fat Diet Increases Gut Microbiota Biodiversity and Energy Expenditure Due to Nutrient Difference. *Nutrients 2020, Vol. 12, Page 3197, 12(10), 3197. doi:10.3390/NU12103197*  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
97. Wasimuddin, Malik, H., Ratovonamana, Y. R., Rakotondranary, S. J., Ganzhorn, J. U., & Sommer, S. (2022). Anthropogenic Disturbance Impacts Gut Microbiome Homeostasis in a Malagasy Primate. *Frontiers in Microbiology, 13, 2102.*  
 doi:10.3389/FMICB.2022.911275/BIBTEX  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
98. Webb, C. O. (2000). Exploring the Phylogenetic Structure of Ecological Communities: An Example for Rain Forest Trees. doi:10.1086/303378, 156(2), 145–155. 10.1086/303378  
[CrossRefPubMedWeb of ScienceGoogle Scholar](#)
99. Webb, C. O., Ackerly, D. D., McPeck, M. A., & Donoghue, M. J. (2002). Phylogenies and Community Ecology. doi:10.1146/Annurev.Ecolsys.33.010802.150448, 33, 475–505.  
 10.1146/ANNUREV.ECOLSYS.33.010802.150448  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
100. Weinstein, S. B., Martinez-Mota, R., Stapleton, T. E., Klure, D. M., Greenhalgh, R., Orr, T. J., Dale, C., Kohl, K. D., & Denise Dearing, M. (2021). Microbiome stability and structure is governed by host phylogeny over diet and geography in woodrats (*Neotoma* spp.). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 118(47).*  
 doi:10.1073/PNAS.2108787118/-/DCSUPPLEMENTAL  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
101. Werner, C. S., & Nunn, C. L. (2020). Effect of urban habitat use on parasitism in mammals: a meta-analysis. *Proceedings of the Royal Society B, 287(1927).*  
 doi:10.1098/RSPB.2020.0397  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
102. West, A. G., Waite, D. W., Deines, P., Bourne, D. G., Digby, A., McKenzie, V. J., & Taylor, M. W. (2019). The microbiome in threatened species conservation. *Biological Conservation, 229, 85–98. doi:10.1016/J.BIOCON.2018.11.016*  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
103. Wilkins, L. J., Monga, M., & Miller, A. W. (2019). Defining Dysbiosis for a Cluster of Chronic Diseases. *Scientific Reports 2019 9:1, 9(1), 1–10. doi:10.1038/s41598-019-49452-y*  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
104. Willig, M. R., & Presley, S. J. (2018). Biodiversity and Disturbance. *Encyclopedia of the Anthropocene, 1–5, 45–51. doi:10.1016/B978-0-12-809665-9.09813-X*  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
105. Zaneveld, J., McMinds, R., & Vega Thurber, R. (2017). Stress and stability: applying the Anna Karenina principle to animal microbiomes. *Nature Microbiology, 2.*  
 doi:10.1038/NMICROBIOL.2017.121  
[CrossRefGoogle Scholar](#)

106. Zepeda Mendoza, M. L., Xiong, Z., Escalera-Zamudio, M., Runge, A. K., Thézé, J., Streicker, D., Frank, H. K., Loza-Rubio, E., Liu, S., Ryder, O. A., Samaniego Castruita, J. A., Katzourakis, A., Pacheco, G., Taboada, B., Löber, U., Pybus, O. G., Li, Y., Rojas-Anaya, E., Bohmann, K., ... Gilbert, M. P. T. (2018). Hologenomic adaptations underlying the evolution of sanguivory in the common vampire bat. *Nature Ecology & Evolution*, 2(4), 659.  
doi:10.1038/S41559-018-0476-8  
[CrossRefGoogle Scholar](#)

#### IV. Conclusion

Nous avons observé que la diversité et la composition des communautés de petits mammifères et de leur microbiote intestinal pouvaient être influencées par l'anthropisation. Nous avons identifié différentes caractéristiques du microbiote intestinal, particulières aux espèces citadines, adaptées ou évitantes des environnements urbains.

Les espèces présentant une grande capacité d'adaptation à leur environnement, i.e. présentes tout le long du gradient d'anthropisation, se caractérisaient par une composition fonctionnelle du microbiote intestinal relativement stable au fil du temps (*A. sylvaticus*) et le long du gradient d'anthropisation (*A. sylvaticus*, *M. glareolus*, *A. flavicollis*). Ceci semblait permis en grande partie grâce à une redondance fonctionnelle importante.

En revanche, les espèces spécialistes, citadines ou présentes uniquement en forêt, présentaient une plus grande variabilité inter-individuelle dans leur composition, ce qui semblait pouvoir affecter la "santé" de l'hôte (signe de dysbiose). La redondance fonctionnelle du microbiote intestinal de ces espèces était faible, ce qui signifiait que les espèces avaient une grande diversité de fonctions. Certaines de ces fonctions étaient surexprimées chez tous les individus, suggérant une sélection de taxons spécialisés à un environnement particulier, et assurant des fonctions potentiellement essentielles à l'adaptation à ces milieux.

En résumé, ces études apportent des connaissances importantes sur la structure et la variabilité du microbiote intestinal des petits mammifères en milieu naturel. Les travaux réalisés nous ont aussi permis de mettre en évidence les processus écologiques qui influencent l'assemblage des communautés bactériennes intestinales chez ces animaux, le long d'un gradient d'anthropisation et au fil des saisons. La connaissance et le suivi de la biodiversité du microbiote intestinal dans la faune sauvage pourraient représenter une nouvelle approche pour mieux appréhender la santé animale en milieu naturel.

## Chapitre 4 – Analyse des interactions entre communautés microbiennes commensales et communautés de pathogènes

### I. Contexte

Les pathogènes ont souvent été étudiés de manière isolée plutôt que dans le cadre d'une communauté dont les entités interagissent. Bien que le nombre d'études sur les co-infections et les interactions entre pathogènes ou entre pathogène(s) et microbiotes commensaux ne cesse d'augmenter (*exemple* Dash et al., 2019; Liu et al., 2021), les recherches sur ces interactions restent rares et centrées sur quelques taxons, et très peu d'études évaluent conjointement ces interactions entre communautés de pathogènes et communautés commensales.

Les liens entre les communautés bactériennes commensales et les communautés de pathogènes pourraient être expliqués par l'influence de facteurs environnementaux partagés (filtres intra-hôtes ou externes). Ils peuvent aussi résulter des interactions entre communautés ou taxons, indépendantes de l'environnement, médiées par des actions mécaniques (production de biofilms), la production de métabolites ou toxines, ou le système immunitaire entre autres possibilités. En revanche, il est possible que des interactions spécifiques se produisent entre les pathogènes et le microbiote intestinal par exemple, sans que la diversité ou la composition globale de ces communautés soit affectées (*exemple* Kreisinger et al., 2015).

Dans cette étude, nous avons entrepris d'explorer les relations tripartites entre les communautés de bactéries intestinales, les communautés de bactéries pathogènes et les communautés d'helminthes gastro-intestinaux, chez le campagnol roussâtre *Myodes* (syn. *Clethrionomys*) *glareolus*. Les analyses ont été effectuées en utilisant des données provenant d'une campagne d'échantillonnage réalisée en 2014. Cette campagne a couvert quatre sites situés dans le Jura et l'Ain, dont deux étaient communs avec l'échantillonnage effectué pour ma thèse. Les méthodes de détection des pathogènes ainsi que la caractérisation du microbiote intestinal ont été les mêmes que celles décrites dans le **chapitre 1** et le **chapitre 3**, respectivement.

II. Relations tripartites entre le microbiote intestinal, les assemblages d'helminthes et les infections bactériennes dans les populations de campagnols roussâtres.



# Peer Community Journal

Section: Infections

RESEARCH ARTICLE

Published  
2023-02-10

Cite as  
Marie Bouilloud, Maxime Galan,  
Adelaide Dubois, Christophe Diagne,  
Philippe Marianneau, Benjamin  
Roche and Nathalie Charbonnel  
(2023) *Three-way relationships  
between gut microbiota, helminth  
assemblages and bacterial infections in  
wild rodent populations*, Peer  
Community Journal, 3: e18.

Correspondence

## Three-way relationships between gut microbiota, helminth assemblages and bacterial infections in wild rodent populations

Marie Bouilloud<sup>1,2</sup>, Maxime Galan<sup>1</sup>, Adelaide Dubois<sup>1</sup>,  
Christophe Diagne<sup>3</sup>, Philippe Marianneau<sup>4</sup>, Benjamin  
Roche<sup>2</sup>, and Nathalie Charbonnel<sup>1</sup>

Volume 3 (2023), article e18

<https://peercommunityjournal.org/item/10.24072/pcjournal.243.pdf>

### A. Abstract

**Background** Despite its central role in host fitness, the gut microbiota may differ greatly between individuals. This variability is often mediated by environmental or host factors such as diet, genetics, and infections. Recently, a particular attention has been given to the interactions between gut bacteria and helminths, as these latter could affect host susceptibility to other infections. Further studies are still required to better understand the three-way interactions between gut bacteria, helminths and other parasites, especially because previous findings have been very variable, even for comparable host-parasite systems.

**Methods** In our study, we used the V4 region of the 16S rRNA gene to assess the variability of gut bacteria diversity and composition in wild populations of a small mammal, the bank vole

*Myodes glareolus*. Four sites were sampled at a regional geographical scale (100 km) along a North-South transect in Eastern France. We applied analyses of community and microbial ecology to evaluate the interactions between the gut bacteriota, the gastro-intestinal helminths and the pathogenic bacteria detected in the spleen.

**Results** We identified important variations of the gut bacteriota composition and diversity among bank voles. They were mainly explained by sampling localities and reflected the North/South sampling transect. In addition, we detected two main enterotypes, that might correspond to contrasted diets. We found geographic variations of the Firmicutes/Bacteroidetes ratio, that correlated positively with body mass index. We found positive correlations between the specific richness of the gut bacteriota and of the helminth community, as well as between the composition of these two communities, even when accounting for the influence of geographical distance. The helminths *Aonchotheca murissylvatici*, *Heligmosomum mixtum* and the bacteria *Bartonella* sp were the main taxa associated with the whole gut bacteriota composition. Besides, changes in relative abundance of particular gut bacteriota taxa were specifically associated with other helminths (*Mastophorus muris*, *Catenotaenia henttoneni*, *Paranoplocephala omphalodes* and *Trichuris arvicolae*) or pathogenic bacteria. Especially, infections with *Neoehrlichia mikurensis*, *Orientia* sp, *Rickettsia* sp and *P. omphalodes* were associated with lower relative abundance of the family Erysipelotrichaceae (Firmicutes), while coinfections with higher number of bacterial infections were associated with lower relative abundance of a Bacteroidales family (Bacteroidetes).

**Conclusions** These results emphasize complex interlinkages between gut bacteriota and infections in wild animal populations. They remain difficult to generalize due to the strong impact of environment on these interactions, even at regional geographical scales. Abiotic features, as well as small mammal community composition and within host parasite coinfections, should now be considered to better understand the spatial variations observed in the relationships between gut bacteriota, gastro-intestinal helminths and bacterial infections.

## B. Introduction

Vertebrate gut microbiota plays key roles in host fitness through functions including nutrient acquisition, immunity and defence against infectious exogenous agents (hereafter called

'parasites' and including micro- and macroparasites) or proliferating indigenous organisms ([Belkaid & Hand, 2014](#); [Kamada \*et al.\*, 2013](#); [Round & Mazmanian, 2009](#)) among others.

Nonetheless, the gut microbiota may differ greatly in natural environments between individuals, populations and species ([Vujkovic-Cvijin \*et al.\*, 2020](#)). Its composition is even subject to high temporal variation for a given individual.

These variations are shaped by ecological and/or evolutionary processes, among which stochasticity, migration and/or adaptive differences in microbes ([McDonald \*et al.\*, 2020](#); [Kolodny & Schulenburg, 2020](#)). They are mediated by environmental features (e.g. acquisition of microorganisms from the environment, potentially through diet [Ley \*et al.\*, 2008](#); [Moran \*et al.\*, 2019](#)), host factors (notably phylogeny, genetics or vertical transmission from mother to offspring) and interactions between hosts and their environment across space and time. For example, disruption of host-associated gut microbiota (termed "dysbiosis") may occur as a result of environmental change and stress affecting the host. This has been shown in the context of anthropogenic pressures (e.g. chemical exposures, [Rosenfeld, 2017](#); urbanisation, [Stothart \*et al.\*, 2019](#)) or parasite infections ([Trevelline \*et al.\*, 2019](#)).

Understanding the relationships between gut microbiota and parasites is crucial regarding their potential impacts on human and animal health ([Clemente \*et al.\*, 2012](#)). Among the numerous studies of vertebrate microbiota, some of them have put an emphasis on the gut bacterial microbiota (called hereafter 'gut bacteriota') and their interactions with gastro-intestinal helminth parasites. On one hand, the gut bacteriota may act as an innate immune barrier to intestinal infections and influence the local colonisation and growth of eukaryotic parasites, including helminths, through competitive metabolic interactions or induction of host immune responses ([Leung \*et al.\*, 2018](#)). On the other hand, helminth infections may also directly or indirectly affect the composition of the gut bacteriota via physical contact, competition for resources or host immunoregulation (see [Kreisinger \*et al.\*, 2015](#)).

Interactions between helminths and the gut bacteriota may be positive or negative ([Loke & Lim, 2015](#)). They may lead to potentially local but also systemic physiological changes affecting host health. For example, helminth infections can lead to malnutrition and weight loss through the dysfunction of microbial metabolism that could result from negative impacts on



fermentative gut bacteria ([Leung et al., 2018](#)). Besides, some helminth infections promote higher abundance of gut bacteria that produce short-chain fatty acids from dietary fiber ([Zaiss et al., 2015](#)). These metabolites circulate throughout the body and are important regulators of host physiology (glucose and fat metabolism) and immune system ([Honda & Littman, 2016](#); [Kim, 2021](#)). Interactions between these helminths and gut bacteria may here increase the host anti-inflammatory and regulatory T cell suppressor responses, what may in turn affect host susceptibility to other infections as well as the outcomes of infections ([Glendinning et al., 2014](#)).

The gut microbiota may also influence microparasite infections through their immune function against local pathogenic bacteria colonization and their role in maintaining the intestinal epithelium integrity ([Khosravi & Mazmanian, 2013](#)). There is also strong evidence for systemic interactions between the gut microbiota and extra-intestinal microbiota communities, at least in laboratory mice (e.g. [Rosshart et al., 2017](#);). This systemic impact of gut microbiota is mediated by host immunity ([Zheng et al., 2020](#)). As such, the gut microbiota produces metabolites (e.g., bacteriocins, short-chain fatty acids, microbial amino-acids) that translocate from the intestinal lumen to various organs (e.g., liver, brain, lung) through the circulatory system. This may induce tissue-specific immune responses, and affect the host's susceptibility/resistance to (non enteric) pathogens (Winckler & Thackray, 2019; [Pfeiffer & Sonnenburg, 2011](#)). Most of these studies have focused on viruses (e.g., influenza A, coronaviruses, [Karst & Wobus, 2019](#)) and not yet on pathogenic bacteria (but see [Rolhion & Chassaing, 2015](#)). The systemic impact of gut bacteriota on microparasite infections still represents a fundamental knowledge gap in wild animals ([Pascoe et al., 2017](#)).

The three-way interactions between host's gut bacteriota, gastro-intestinal helminths and microparasites have been scarcely investigated in a single system, despite clearly becoming pivotal in disease ecology. Yet, the growing interest on gut bacteriota/parasitism relationships in recent literature (P. T. [Johnson et al., 2015](#)) highlights the critical need for further empirical works. One main reason is the relatively low concordance of findings between previous studies – even for comparable host-parasite systems (e.g. for *Trichuris* sp and the gut microbiota, see [Cortes et al., 2019](#); [Lawson et al., 2021](#)). Up to now, most of the research on this topic have been conducted on model species in laboratory settings. Although experiments under controlled conditions may help deciphering the mechanisms underlying these interactions



between gut bacteriota and parasites in vertebrates ([Pascoe et al., 2017](#)), they also have inherent limitations. On the one hand, they only included a restricted number of targeted parasites (usually helminths and/or microparasites). Consequently, they often omitted the potential effects of species interactions between and within parasite communities at the intra-host level ([Telfer et al., 2010](#)). Co-infections by helminths species have been noticed by parasitologists for decades ([Montgomery & Montgomery, 1989](#); Haukisalmi & Henttonen, 1993). Yet, co-infections between highly divergent micro- and macroparasites are also recognized to be the rule in most hosts in natural environments. Indeed, wild animals may carry simultaneously a large number of bacteria, helminths, viruses ([Hoarau et al., 2020](#)). On the other hand, they are unable to include – and then capture the complexity of – the environmental conditions as drivers of the composition of gut bacteriota and of the exposure or sensibility to these latter ([Adair & Douglas, 2017](#)). From there, studies in natural contexts deserve strong consideration because these environmental factors may impact deeply the relationships between gut bacteriota and parasitism. Empirical studies should enable to highlight associations, what is a critical pre-requisite before defining hypotheses about potential interactions and their underlying mechanisms.

Here, we strived to bridge these gaps by assessing the variability of gut bacteriota diversity and composition in wild populations of the bank vole *Myodes glareolus*, which is a small mammal reservoir of a large number of infectious agents (e.g., Abbate *et al.*, In\_revision). We studied the relationships between its gut bacteriota, parasite infracommunities (focusing on gastro-intestinal helminths and pathogenic bacterial infections) and host and environmental factors that may either influence or indicate the health status of the host (e.g., proxies such as the body mass index (BMI)). The current study therefore addressed two main questions: (1) how is the structure (composition and diversity) of the gut bacteriota influenced by host and environmental factors? (2) does the structure of gut bacteriota also reflect associations with gastro-intestinal helminth and pathogenic bacterial communities?

## C. Material and methods

### *Data collection*

#### Bank vole sampling

Bank voles (*Myodes glareolus*) were trapped in summer, between late June and early September 2014 in forests located in four French localities ([Table 1](#), Figure S1) distributed along a North-South transect in Eastern France. These localities are separated by 40 to 120 km from one another. The standardized trapping protocol used here was described in details in [Dubois et al. \(2018\)](#).

Rodents were euthanized using isoflurane and cervical dislocation, as recommended by Mills (1995). A similar set of morphological measures was systematically recorded for each individual. Age groups (juveniles and adults) were defined according to body mass and sexual maturity. This latter was inferred using testes length and position, and seminal vesicle development for males, or uterus size for females. Body condition was estimated using the body mass index ( $BMI = \text{weight}/\text{length}^2$ ). The digestive tract and the spleen were removed and stored respectively in 96% ethanol and RNA later solution ( $-20^{\circ}\text{C}$ ).

Ethical statements: Animal capture and handling have been conducted according to the French and European regulations on care and protection of laboratory animals (French Law 2001-486 issued on June 6, 2001 and Directive 2010/63/EU issued on September 22, 2010). The CBGP laboratory has approval (D-34-169-003) from the Departmental Direction of Population Protection (DDPP, Hérault, France), for the sampling of rodents and the storage and use of their tissues.

**Table 1.** Number of bank voles analysed and prevalence of potentially pathogenic bacteria and gastro-intestinal helminths for each sampling locality. N is the number of bank voles analysed (Grey cells). NT represents the number of individuals with data available for the three intra-host communities (gut bacteriota, pathogenic bacteria and gastro-intestinal helminths). NGB, NPB and NGIH respectively represent the number of individuals with data available for each of these intra-host communities. 'Uninfected' corresponds to the number of uninfected bank voles for a given intra-host community. 'Co-infection' corresponds to the number of bank voles infected with at least two parasites of a given intra-host community. Prevalence is provided for each pathogenic bacteria detected from the spleen, and each gastro-intestinal helminth. The red color gradient illustrates variations in prevalence (0% = light red to 100% = dark red).

	Full data	Sampling localities			
		Mont-sous-Vaudrey	Chaux-des-Crotenay	Chatillon	Cormaranche
<b>Full data</b>					
N <sub>T</sub>	124	22	34	36	32
<b>Gut bacteriota</b>					
N <sub>GB</sub>	161	37	42	41	41
<b>Pathogenic bacteria</b>					
N <sub>PB</sub>	138	22	34	38	37
Uninfected <sub>PB</sub>	11	3	1	3	4
Co-infection <sub>PB</sub>	67	10	21	16	20
<i>Bartonella sp</i>	0.73	0.80	0.81	0.69	0.66
<i>Mycoplasma haemomuris</i>	0.36	0.28	0.39	0.36	0.39
<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	0.14	0.04	0.33	0.08	0.11
<i>Neohrlichia mikurensis</i>	0.13	0.16	0.00	0.08	0.29
<i>Orientia tsutsugamushi</i>	0.08	0.00	0.08	0.21	0.00
<i>Rickettsia sp</i>	0.05	0.00	0.08	0.05	0.05
<i>Spiroplasma sp</i>	0.04	0.04	0.00	0.00	0.11
<i>Borrelia miyamotoi</i>	0.02	0.04	0.00	0.03	0.03
<i>Borrelia afzelii</i>	0.02	0.08	0.00	0.00	0.03
<i>Mycoplasma coccoides</i>	0.01	0.04	0.00	0.00	0.00
<b>Gastro-intestinal helminths</b>					
N <sub>GIH</sub>	153	37	42	39	35
Uninfected <sub>GIH</sub>	29	16	4	6	3
Co-infection <sub>GIH</sub>	64	2	22	13	27
<i>Heligmosomoides glareoli</i>	0.48	0.49	0.36	0.54	0.54
<i>Heligmosomum mixtum</i>	0.41	0.00	0.76	0.00	0.86
<i>Aonchotheca murissylvatici</i>	0.35	0.03	0.26	0.59	0.54
<i>Catenotaenia henttoneni</i>	0.10	0.03	0.19	0.10	0.06
<i>Paranoplocephala omphalodes</i>	0.06	0.00	0.14	0.00	0.09
<i>Arostrilepis horrida</i>	0.03	0.00	0.00	0.00	0.14
<i>Mastophorus muris</i>	0.01	0.05	0.00	0.00	0.00
<i>Trichuris arvicolae</i>	0.01	0.03	0.00	0.00	0.00

## Characterization of gut bacteriota

We first characterized the gut bacteriota of bank voles. We focused on the colon as rodent gut microbiota exhibits the highest level of bacterial diversity in the lower segments of the digestive tract ([Suzuki & Nachman, 2016](#)). DNA was extracted in 2016 from a 5 mm piece of colon tissue (taken about 1 cm far from the caecum - lumen was removed) of each bank vole using the ZymoBionics 96 DNA Kit (Zymo) following the manufacturer's instructions. We amplified a 251-bp portion of the V4 region of the 16S rRNA gene (16S-V4F [GTGCCAGCMGCCGCGGTAA] and 16S-V4R [GGACTACHVGGGTWTCTAATCC]), following [Kozich et al. \(2013\)](#) and as described in [Galan et al. \(2016\)](#). Samples were multiplexed using dual-indexes (index i5 in the forward primer and index i7 in the reverse primer). Negative controls for extraction (whole reagents without DNA), for PCR (PCR mix without DNA), and for indexing (wells without reagents corresponding to particular dual-indexes combinations). All DNA extractions were analysed twice using two independent technical replicates of amplicon libraries. PCR products were pooled, migrated and excised on a low melting agarose gel (1.25%) then purified using the NucleoSpin Gel and PCR Clean-Up kit (Macherey-Nagel) and quantified using the KAPA library quantification kit (KAPA Biosystems) standardized to 4nM by qPCR spectrophotometry (assay). Sequencing was performed on a 251-bp paired-end Illumina MiSeq run. The raw sequence reads (.fastq format) have been deposited in the Zenodo Repository.

Sequence data were processed as described in [Galan et al. \(2016\)](#) using the pipelines implemented in FROGS (Find Rapidly OTU with Galaxy Solution, [Escudié et al., 2018](#)). Briefly, the paired-end sequences were trimmed with CUTADAPT ([Martin, 2011](#)), merged with FLASH ([MAGOC & SALZBERG, 2011](#)), and clustered into fine-scale molecular operational taxonomy OTU units at 97% identity using the SWARM algorithm ([Mahe et al., 2014](#)) executed with aggregation parameter distance  $d=1$  and a second pass performed on the seeds of previous clusters with  $d=3$ . As such, OTUs do not correspond to a fixed clustering threshold. Putative chimeras were removed using VSEARCH tools with de novo VUCHIME and the cross-validation method. Taxonomy was assigned with BLASTN+ ([Camacho et al., 2009](#)) using the SILVA SSU Ref NR 128 database as a reference (<http://www.arb175silva.de/projects/ssu-ref-nr/>). Filtering for false positives was carried out as proposed by [Galan et al. \(2016\)](#). In short, we discarded positive results associated with sequence counts below two OTU-specific thresholds, which checked respectively for cross-contamination between samples (using the negative controls for

extraction and PCR) and incorrect assignment due to the generation of mixed clusters on the flow cell during Illumina sequencing, using a false index-pairing rate for each PCR product of 0.02%, based on estimates from [Galan et al. \(2016\)](#). For each sample, only OTUs found in the two technical replicates were considered as positive, and OTUs found in only one of the two replicates were removed. The number of sequences obtained for each technical replicate from a sample were summed.

Lastly, we discarded OTUs and samples containing less than 500 reads in the dataset, as well as OTUs considered to be contaminants, following ([Salter et al., 2014](#)). Number of reads per OTU were finally normalised to proportional abundance within each rodent ([McKnight et al., 2019](#)). We only considered the family taxonomic rank for further analyses, but analyses at the phylum level provided similar results (not shown).

#### Detection of pathogenic bacteria and gastro-intestinal helminths

We described the presence/absence of pathogenic bacteria from the spleen of each bank vole. This lymphoid organ filters microbial cells in mammals and as such, enables to recover recent infections (Abbate *et al.*, In\_revision; [Diagne et al., 2017](#)). Molecular protocols, bioinformatics pipelines and data filtering were similar to those described above (gut bacteriota), except for the DNA extraction from splenic tissue using DNeasy 96 Tissue Kit (Qiagen). The potential pathogenicity of each bacterial OTU was assessed based on published literature and on the Gideon database (<https://www.gideononline.com/>). Opportunistic pathogens (*i.e.* commensal agents in healthy hosts, that become pathogenic when the balance of the immune system is disrupted) were discarded from the dataset. Only the information of the presence / absence of pathogenic OTUs was considered. For each bank vole, helminths were carefully extracted and counted from the different sections of the digestive tract (stomach, small intestine, large intestine and caecum), and classified by morphotype then stored in 95% ethanol for further accurate identification. The latter was based on unambiguous morphological criteria using conventional microscopy and generalist identification keys or specific literature when available ([Anderson et al., 2009](#) ; [Khalil et al., 1994](#) ; [Ribas Salvador et al., 2011](#)).

## Statistical analyses

All statistical analyses were implemented in R v4.0.3 (team, 2020). For more convenience, gut bacteriota, pathogenic bacteria and gastro-intestinal helminths were further described as 'intra-host communities'.

## Gut microbiota diversity and composition

Description and analyses of bacterial communities were performed using the PHYLOSEQ package ([McMurdie & Holmes, 2013](#)). We considered three features to analyse within hosts' gut microbiota. i) We looked for enterotypes, *i.e.* distinct community composition types of gut bacteriota, as found in humans ([Arumugam et al., 2011](#); [Holmes et al., 2012](#)), using the Dirichlet Multinomial Mixtures DMM ([Morgan, 2021](#)). ii) We analysed the Firmicutes /Bacteroidetes (F/B) log-ratio, as it is often used as a proxy of health or metabolism in humans and mice (Ley *et al.*, 2005; Toumi *et al.*, 2022). We calculated this ratio with the MICROBIOTA package ([Lahti & Shetty, 2017](#)). iii) We characterized the alpha diversity using two metrics, the specific richness (*i.e.* number of taxa within the host individual) and the Shannon index as recommended in ([Haegeman et al., 2013](#)).

We estimated the beta diversity, *i.e.*, the dissimilarity between host individuals in their gut bacteriota using Bray-Curtis distances. We considered the relative abundance of OTUs (family).

Influence of host and environmental factors on gut bacteriota diversity and composition We tested the influence of individual characteristics (age class, gender, BMI) and localities, independently on the F/B log-ratio and on the alpha diversity using generalized linear models (GLM). We considered a negative binomial error distribution for the F/B ratio and the specific richness, and a gaussian distribution for the Shannon index. Best model selection was performed considering models with all possible combinations of factors and the DREDGE function of the MUMIN package. The best model was selected using the Akaike information criterion corrected for small sample size AICc, (J. B. [Johnson & Omland, 2004](#)). We assessed the effect of each factor in the best model with the  $\Delta$ AICc index. When the factor locality was significant, Tukey's post-hoc tests were applied to evaluate pairwise differences between localities, using the MULTCOMP package ([Hothorn et al., 2008](#)). Residuals were checked to graphically to ensure that all assumptions regarding normality, independence and the homogeneity of variance were satisfied.

We evaluated the influence of geographic distance on the dissimilarities in gut bacteriota by performing Mantel tests and using Pearson correlation (10,000 permutations). These tests have less statistical power to address questions related to the variation in community composition data among sites. Therefore, we also analysed the factors shaping the dissimilarities in gut microbiota composition using several functions of the VEGAN package ([Oksanen et al., 2020](#)). Distance-based redundancy analyses (db-RDA) were performed to analyse the effect of individual explanatory factors (age class, gender, BMI) and sampling localities on dissimilarities in gut microbiota composition. Redundancy analyses are appropriate to test hypotheses about the origin and maintenance of the variation in  $\beta$  diversity (Legendre et al. 2005). We used the CAPSCALE function, followed by permutational multivariate analyses of variance (PERMANOVA). We selected the best model, *i.e.*, the most parsimonious one, using the ORDIR2STEP function ( $P$ -value adjusted and  $R^2$  adjusted). For each factor, we evaluated the intra-group dispersion using the BETADISPER function as PERMANOVA analyses are sensitive to differences in dispersion among groups. A Tukey's test was done to see if and which groups differed in relation to their variances. Lastly, we used DESEQ2 package (Love et al., 2014) to identify the changes in bacteria taxa that best explained gut bacteriome dissimilarities between individuals and localities. We performed GLMs with negative binomial error (NBINOMWALDTEST method) and significant differences were obtained after Benjamini & Hochberg corrections. They were visualised using the METACODER package (Foster et al., 2017).

### Relationships between gut bacteriota and pathogenic communities

We estimated the alpha diversity of the gastro-intestinal helminth and pathogenic bacteria community using the richness index (presence/absence data). We used GLMS and model selection process described above to analyse whether the alpha diversity of each intra-host community (gut bacteriota and pathogenic communities) was influenced by the alpha diversity of the two other ones.

We estimated the beta diversity of the gastro-intestinal helminth and pathogenic bacteria community using the Jaccard index (presence/absence data). The relationships between intra-host community dissimilarities were investigated using three approaches. i) We applied partial Mantel tests using MULTI.MANTEL (phytools package [Revell, 2012](#)) to analyse the correlation

between two matrices of dissimilarities (corresponding to two different communities), while controlling for the effect of a third dissimilarity matrix (third community). ii) We used db-RDA to analyse more deeply the relationships between the gut bacteriota and the pathogenic (bacteria and helminths) communities. We included the alpha diversity indices (richness specific) and infectious status as presence / absence) of pathogens with prevalence greater than 10% in at least one locality as explanatory variables in these analyses. We selected the best model using the ORDIR2STEP method. iii) We used DESEQ2 to determine the gut bacteria taxa whose relative abundances changed with significant explanatory variables.

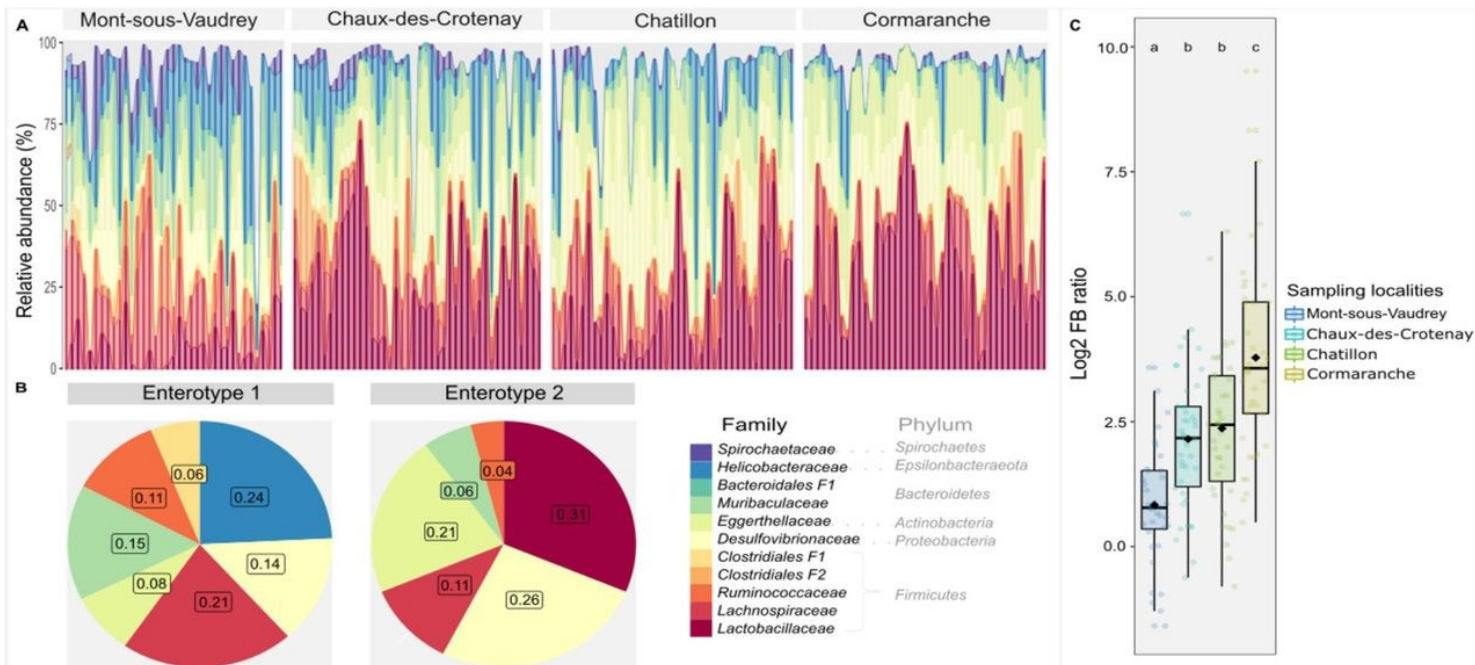
#### D. Results

A total of 186 bank voles were trapped during the fieldwork campaign over the four targeted localities. For technical reasons (e.g., poor sample preservation, missing data), we could study the three intra-host communities for 124 rodents only.

##### *Characterization of the gut bacteriota: taxa and enterotypes*

Once the quality control steps were applied, the gut bacteriota dataset included 161 bank voles. We detected 10 phyla and 61 families of bacteria. At the phylum level, we found six predominant taxa that represented 99% of the gut bacteria relative abundance (Figure S2). At the family level, 11 families represented 93% of the relative abundance of the gut bacteriota ([Figure 1A](#)).





**Fig. 1.** Composition of the intestinal bacteriota. A) The bar plot shows the individual variations of 11 bacterial families (F= Unknown family) belonging to 6 phyla and representing 93% of the total composition. Individuals (bars) are grouped by sampling localities, which are ordered from North to South. Each color represents a taxa. B) The composition of the two enterotypes identified using Dirichlet multinomial mixtures (DMMs), at family rank, is shown. Bacterial families are represented using the same colors as in A. C) the ratio (Firmicutes / Bacteroidetes) is shown for each sampling locality. Box and whisker plots represent the median and interquartile values. Black dots correspond to the mean value, and colored dots correspond to individuals. Different letters indicate statistically significant differences at  $P < 0.05$ , with pairwise Tukey post hoc adjustments. [Open in new tab](#)

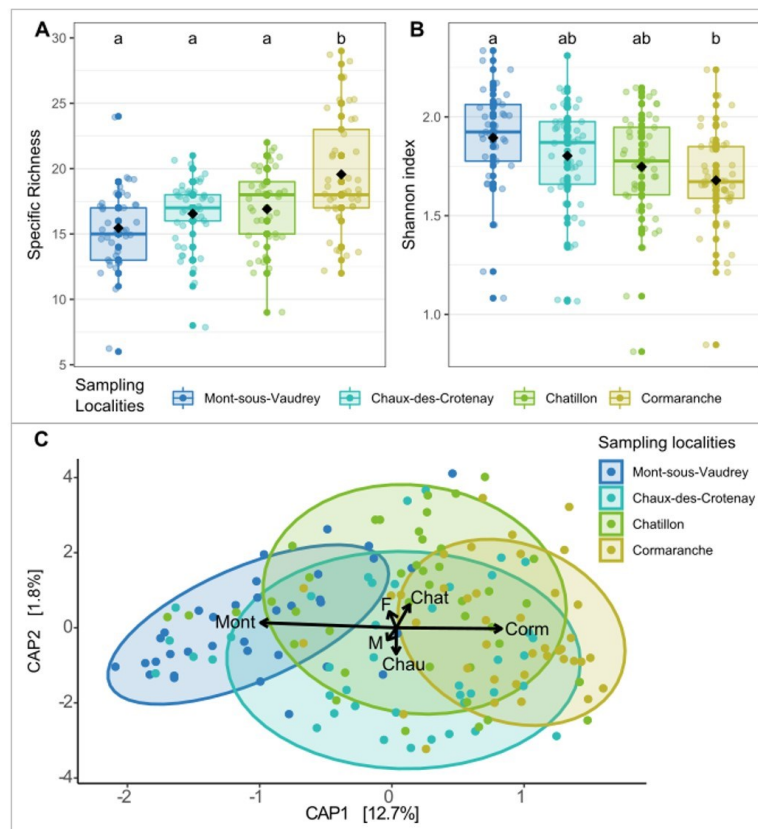
We distinguished two enterotypes from the DMM approach. One (enterotype 1) was mainly composed of the families *Helicobacteraceae*, *Lachnospiraceae*, *Muribaculaceae* and *Desulfovibrionaceae*, while the other (enterotype 2) mainly included *Lactobacillaceae*, *Desulfovibrionaceae* and *Eggerthellaceae* (Figure 1B).

#### Diversity of the gut bacteriota : the influence of sampling locality and host condition

We found that the *Firmicutes* / *Bacteroidetes* ratio varied significantly between localities (Figure 1C). Overall, northern localities exhibited lower F/B ratio than southern ones, with all pairwise comparisons being significant except Chatillon versus Chaux-des-Crotenay. Individual characteristics did not influence this ratio (Table S1).

The sampling locality had a significant global effect on the alpha diversity of the gut bacteriota (GLMs. Specific richness:  $F = 8.49$ ,  $P < 10^{-3}$ ; Figure 2A; Shannon index:  $F = 4.74$ ,  $P = 3 \times 10^{-3}$ ; Figure 2B; Table S2A). The locality Cormaranche exhibited a higher specific richness than all

other localities (*Tukey post hoc test*. Mont-sous-Vaudrey:  $Z = 5.13$ ,  $P_{adj} < 10^{-3}$ , Chaux-des-Crotenay:  $Z = 4.57$ ,  $P_{adj} < 10^{-3}$  and Chatillon:  $Z = 3.62$ ,  $P_{adj} = 1.7 \times 10^{-3}$ ) but a lower level of diversity than Mont-sous-Vaudrey when considering taxa relative abundance (*Tukey post hoc test*. Shannon index:  $Z = -3.64$ ,  $P_{adj} = 1.5 \times 10^{-3}$ , [Figure 2B](#)). Body condition (BMI) was also found to have a significant effect, but only when considering specific richness ( $t = 2.91$ ;  $P = 4 \times 10^{-3}$ ) – with higher values of BMI associated with increasing species richness. All these results are detailed in Table S2A and Figures S3).



**Fig. 2.** Variations of the gut microbiota alpha diversity between localities. Alpha diversity is represented using; [Open in new tab](#) A) the specific richness of the gut microbiota, and B) the Shannon index of the gut microbiota. Results are shown per locality, ordered from North to South. Each colored point represents an individual. Black points indicate the average alpha diversity per locality. Box-and-whisker plots represent the median and interquartile values. Different letters denote statistically significant differences at  $P < 0.05$ , with pairwise post-hoc Tukey adjustments. C) Distance-based redundancy analysis (db-RDA) of the gut microbiota (family) based on Bray–Curtis dissimilarities. Dots represent individuals. The colors and shapes of the dots are associated with different factors: Localities from North to South (Mont-sous-Vaudrey: Mont, Chaux-des-Crotenay: Chau, Chatillon: Chat and Cormaranche: Corm) and gender (females: F and males: M). Significant factors based on the ordiR2step analysis are shown as arrows. Ellipses represent a 80% confidence interval around the centroid of the clusters, for each locality.

### *Composition of the gut bacteriota: sampling locality as the main factor of variation*

We found a significant positive relationship between the dissimilarities in gut bacteriota composition and the geographic distance (*Mantel test*.  $r = 0.25$ ,  $P = 10^{-4}$ , Table S3A).

We found a significant effect of the sampling localities (*db-RDA*.  $R^2_{adj} = 0.16$ ,  $P = 1 \times 10^{-3}$ ) and host gender (*db-RDA*.  $R^2_{adj} = 0.01$ ,  $P = 0.027$ ) on gut microbiota composition. The CAP1 axis discriminated Mont-sous-Vaudrey and Cormaranche localities (12.7% of the total variance, [Figure 2C](#)). However, this result has to be taken cautiously as significant differences of data dispersion were detected between localities (*betadisper*.  $P = 1 \times 10^{-3}$ ). The locality Cormaranche showed a lower dispersion compared to all other localities (Tukey multiple comparisons, Table S3B).

We detected significant differences in the relative abundance of specific taxa using DeSeq2 ([Table 2](#); Table S3C). The main changes (Log2 fold values higher than 20) were detected between the northern (Mont-sous-Vaudrey) and southern localities. The northern population was involved in 75% of all significant pairwise differences (Log2 fold change in composition > 10). The gut bacteriota of these bank voles includes less Clostridiales (one unknown family; Firmicutes), Bifidobacteriaceae (Actinobacteria) and Desulfovibrionales (two unknown families; Proteobacteria), but more Erysipelotrichaceae (Firmicutes) than in all the three other southern populations. The gut bacteriota of bank voles from Cormaranche (South) is characterized by less Erysipelotrichaceae (Firmicutes), than in the three northern populations.

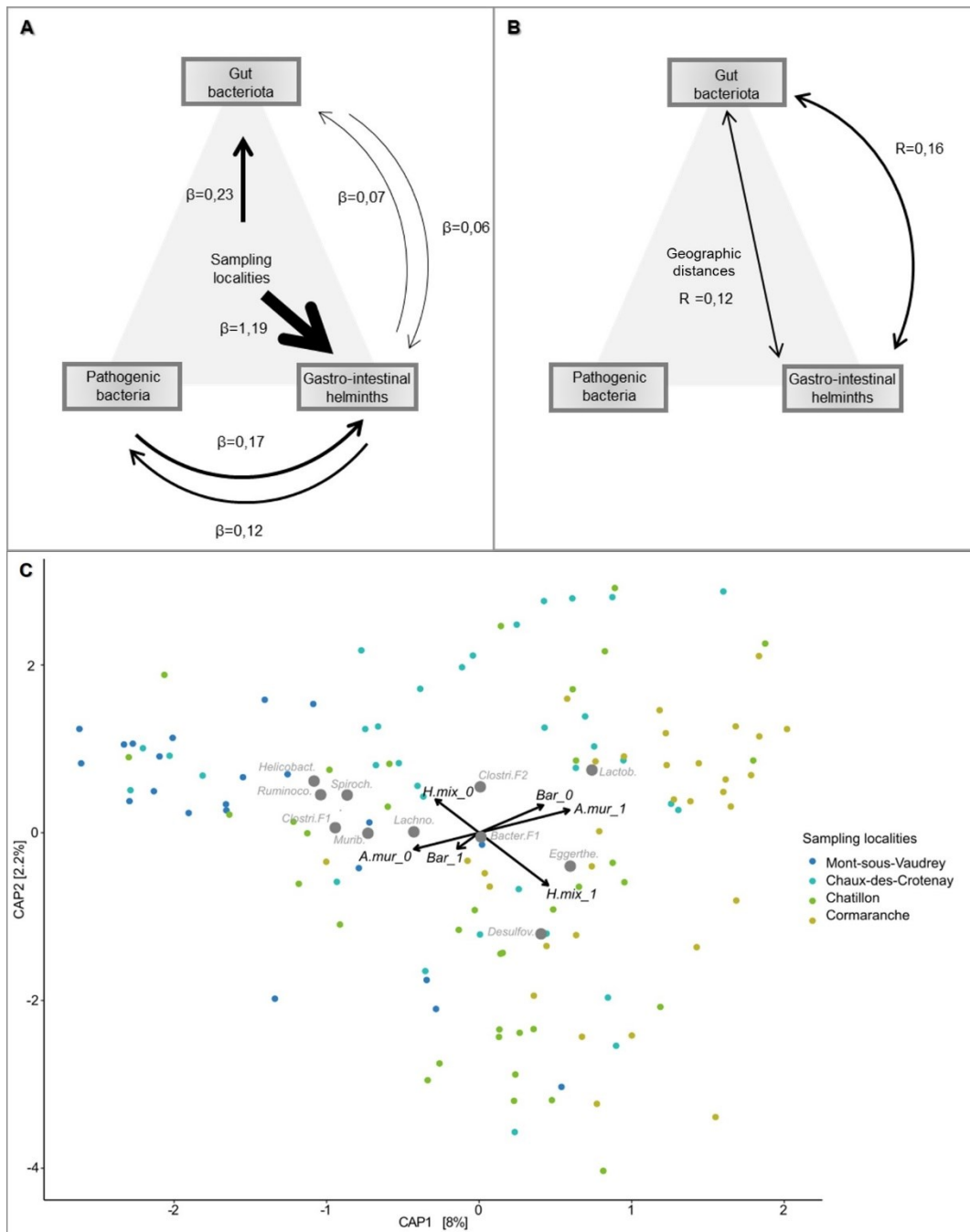
Differences in the composition of the gut bacteriota between males and females bank voles were driven by the phylum *Firmicutes*, with males exhibiting higher relative abundance of this taxa than females (Table S3C).

**Table 2** .Pairwise comparisons of the relative abundance of the gut bacteriota between sampling localities. Mont= Mont-sous-Vaudrey, Chau = Chaux-des-Croteay, Chat = Chatillon, Corm = Cormaranche. The Log<sup>2</sup> fold value is indicated for significant changes in abundance between two localities. Blue and red colors respectively correspond to negative and positive values. Higher absolute changes in Log<sup>2</sup> fold are emphasized with darker colors. The notation “order\_fx” or “class\_fx” is used when there was no assignation at the family level with the SILVA database. Phylum is indicated in bold. [View popup](#)

<b>Taxonomy</b>	<b>Mont vs Chau</b>	<b>Mont vs Chat</b>	<b>Mont vs Corm</b>	<b>Chau vs Chat</b>	<b>Chau vs Corm</b>	<b>Chat vs Corm</b>
<b>Epsilonbacteraeota</b>						
<i>Helicobacteraceae</i>	0	0	1.91	0	0	0
<b>Proteobacteria</b>						
<i>Desulfovibrionaceae</i>	-1.3	-1.63	-1.54	0	0	0
<b>Firmicutes</b>						
<i>Ruminococcaceae</i>	0	0	1.48	0	1.5	1.08
<i>Lactobacillaceae</i>	0	0	-1.81	0	0	0
<i>Clostridiales</i>	0	0	2.16	0	2.27	1.43
<i>Clostridiales_F2</i>	-26.15	-26.31	-26.54	0	0	0
<b>Spirochaetes</b>						
<i>Spirochaetaceae</i>	0	0	2.39	0	0	0
<b>Actinobacteria</b>						
<i>Eggerthellaceae</i>	0	-1.31	-2.42	0	-1.74	0
<b>Bacteroidetes</b>						
<i>Bacteroidales_F4</i>	0	0	0	0	0	-3.59
<i>Muribaculaceae</i>	0	0	1.74	0	1.93	1.64

### *Relationships between the diversity of the three intra-host communities*

We found a significant relationship between the specific richness of the gut bacteriota and the richness of the helminth community. A more diverse gut bacteriota was associated with a greater number of helminth species infecting bank voles (*GLM*.  $F = 14.09$ ,  $P < 10^{-3}$ ; [Figure 3A](#); Table S2B). We also found a positive relationship between the specific richness of the pathogenic bacteria and the richness of the gastro-intestinal helminth community (*GLM*.  $F = 6.99$ ,  $P = 9 \times 10^{-3}$ ; [Figure 3A](#); Table S2B). Lastly, we found a significant effect of the specific richness of both the gut bacteriota and of pathogenic bacteria on the richness of the gastro-intestinal helminth community (*GLM*. Gut bacteriota.  $t = 3.50$ ,  $P < 10^{-3}$ ; pathogenic bacteria  $t = 2.38$ ,  $P = 0.019$ ; [Figure 3A](#), Table S2B).



**Fig.3** Associations between the diversity and composition of the three intra-host communities. Open in new tabThe two upper diagrams show the relationships between A) the specific richness and B) the composition of the three communities, while taking into account the influence of the sampling localities or distance geographic. The effect size and the direction of the relationship between communities are represented using an arrow, its width corresponding to the estimate ( $\beta$ ) x 10 or the correlation index R x 10. Only significant effects are represented.C) This db-RDA triplot shows the structure of the gut bacteriota and the correlations with the pathogen communities. The arrows correspond to the significant explanatory variables. Each point corresponds to an individual, and the colors correspond to the different sampling localities. A.mur: *Aonchotheca mzirissylvatici*, Bar: *Bartonella* sp, H.mix: *Heligmosomum mixtum*.; *Helicobacter*.: *Helicobacteraceae*, *Spiroch*.: *Spirochaetaceae*, *Clostri.F2*: *Clostridiales\_f2*, *Clostri.F1*: *Clostridiales\_f1*, *Lactob*.:*Lactobacillaceae*,*Eggerthe*.: *Eggerthellaceae*, *Desulfov*.: *Desulfovibrionaceae*, *Bacter.F1*: *Bacteroidales\_f1*, *Lachno*.:*Lachnospiraceae*; *Murib*.: *Muribaculaceae*, *Ruminoco*.: *Ruminococcaceae*

### Relationships between the composition of the three intra-host communities

We found a positive relationship between dissimilarities in the gut bacteriota and dissimilarities in the gastro-intestinal helminth community composition (*partial Mantel test*.  $R = 0.16$ ,  $P = 1 \times 10^{-4}$ ; [Figure 3B](#)), but not with dissimilarities in the pathogenic bacteria community composition (*partial Mantel test*.  $r = 0.02$ ,  $P = 0.28$ ). After controlling for geographic distances, dissimilarities in gut bacteriota composition remained significantly correlated with dissimilarities in helminth community composition (*partial Mantel test*.  $R = 0.12$ ;  $P = 0.001$ ). Further details are provided in Table S3A.

We detected significant associations between the whole composition of the gut bacteriota and the presence / absence of three pathogens: *Aonchotheca murissylvatici* (*ordistep db-RDA*.  $R^2_{adj} = 0.0$ ,  $P = 2 \times 10^{-3}$ ), *Bartonella sp* (*ordistep db-RDA*.  $R^2_{adj} = 0.01$ ,  $P = 0.04$ ) and *Heligmosomum mixtum* (*ordistep db-RDA*.  $R^2_{adj} = 0.06$ ,  $P = 2 \times 10^{-3}$ ). The db-RDA triplot based on the two first axes only represented 10.2% of the total variance ([Figure 3C](#); [Figure S4](#)). It showed that individuals infected with *Aonchotheca murissylvatici* or *Heligmosomum mixtum*, but not infected with *Bartonella sp.*, had more *Lactobacillaceae* (*Firmicutes*), *Desulfovibrionaceae* (*Proteobacteria*) and *Eggerthellaceae* (*Actinobacteria*). These individuals also had less *Spirochaetaceae* (*Spirochaeta*), *Muribaculaceae* (*Bacteroidetes*), *Helicobacteraceae* (*Epsilonbacteraeota*) and *Ruminococcaceae* (*Firmicutes*). This pattern is correlated with the sampling localities. Individuals from northern localities are distributed on the left side of the CAP1 axis, and southern ones on the right side of it ([Figure 3C](#)). Neither the specific richness of pathogenic bacteria nor the specific richness of the gastro-intestinal helminth community had a significant effect on the global composition of the gut bacteriota (Table S3D).

The specific richness of the gastro-intestinal helminth community, as well as infections with *A. murissylvatici* and *H. mixtum*, were only slightly associated with different relative abundance of particular gut bacteria taxa (*DeSeq2*. Log2 fold changes did not exceed 3.5). These changes concerned four main families. Rhizobiaceae and Spirochaetaceae showed negative associations with gastro-helminth specific richness and *A. murissylvatici*. Mollicutes (undetermined family) and Saccharimonadaceae showed positive associations with *A. murissylvatici* and *H. mixtum* ([Table 3](#)). More details are provided in Table S3E.

**Table 3.** Changes in relative abundance of the gut bacteriota with regard to infectious status (helminths and pathogenic bacteria) and specific richness. The  $\text{Log}^2$  fold change in relative abundance is indicated for significant values only. Negative values are represented with blue colors, positive values with red colors. Higher absolute changes in  $\text{Log}^2$  fold are emphasized with darker colors. [View popup](#)



Phylum	Family	log2FoldChange
<b>Richness of GI helminths</b>		
Actinobacteria	Eggerthellaceae	0.67
Proteobacteria	Rhizobiaceae	-3.79
Epsilonbacteraeota	Helicobacteraceae	-0.89
<b>Aonchotheca murissylvatici</b>		
Proteobacteria	Desulfovibrionaceae	1.13
Tenericutes	Mollicutes_f1	3.07
Patescibacteria	Saccharimonadaceae	3.03
Spirochaetes	Spirochaetaceae	-1.75
Actinobacteria	Eggerthellaceae	1.4
<b>Heligmosomum mixtum</b>		
Tenericutes	Mollicutes1	3.34
<b>Mastophorus muris</b>		
Proteobacteria	Desulfovibrionales3	-29.98
Firmicutes	Clostridiales_f1	-21.41
Firmicutes	Clostridiales_f2	-23.73
<b>Catenotaenia henttoneni</b>		
Proteobacteria	Rhizobiaceae	-24.71
Proteobacteria	Burkholderiaceae	-23.96
Firmicutes	Erysipelotrichaceae	-20.6
<b>Paranoplocephala omphalodes</b>		
Firmicutes	Clostridiales_f2	-25.37
Proteobacteria	Desulfovibrionales_f3	-23.74
Proteobacteria	Rhizobiaceae	-24.86
Proteobacteria	Burkholderiaceae	-22.69
Firmicutes	Erysipelotrichaceae	-22.4
Firmicutes	Christensenellaceae	-5.24
<b>Trichuris arvicolae</b>		
Firmicutes	Christensenellaceae	-20.69
Firmicutes	Clostridiales_f1	-18.62
Bacteroidetes	Bacteroidales_f4	-18.38
<b>Richness of Pathogenic bacteria</b>		
Bacteroidetes	Bacteroidales_f3	-28.51
<b>Neohrlichia mikurensis</b>		
Firmicutes	Erysipelotrichaceae	-23.42
Firmicutes	Clostridiales	-2.72
Bacteroidetes	Muribaculaceae	-1.76
<b>Orientia tsutsugamushi</b>		
Firmicutes	Erysipelotrichaceae	-22.95
Proteobacteria	Desulfomicrobiaceae	-5.71
Bacteroidetes	Muribaculaceae	-2.45
<b>Anaplasma phagocytophilum</b>		
Firmicutes	Ruminococcaceae	-1.75
<b>Rickettsia sp</b>		
Firmicutes	Erysipelotrichaceae	-21.81



In the opposite, we found strong changes in relative abundance of gut bacteriota families with other gastro-intestinal helminths and pathogenic bacteria infections (*DeSeq2*. Log<sub>2</sub> fold higher than 18, [Table 3](#)). It concerned infections with the helminth species *Mastophorus muris*, *Catenotaenia henttoneni*, *Paranoplocephala omphalodes* and *Trichuris arvicolae*.

These associations were all negative and mostly involved the same bacterial families (Table S3E), namely undetermined families of Bacteroidales (Bacteroidetes), Desulfovibrionales (Proteobacteria) or Clostridiales (Firmicutes), Erysipelotrichaceae (Firmicutes), Rhizobiaceae (Proteobacteria) and Burkholderiaceae (Proteobacteria).

Considering pathogenic bacteria, we found that higher levels of specific richness were associated with lower relative abundance of an undetermined Bacteroidales family (Bacteroidetes), and that *Neoehrlichia mikurensis*, *Orientia tsutsugamushi* and *Rickettsia* sp infections were associated with strong decreases in relative abundance of *Erysipelotrichaceae* (Firmicutes) ([Table 3](#); Table S3E). Other associations between bacterial infections and changes in relative abundance of specific gut bacteriota taxa were detected, but with little size effect (*DeSeq2*. log<sub>2</sub> fold changes lower than 5).

## E. Discussion

Understanding the complex interlinkages between host microbiota, host-pathogen interactions and health in wild animal populations has become a key topic in disease ecology. Such understanding is instrumental for deciphering population dynamics, and designing strategies for zoonotic risk management or biodiversity conservation. Here, we use a combination of metabarcoding and community ecology approaches to (i) describe the gut microbiota of wild rodent populations and their variations at a regional geographical scale, and (ii) explore the three-way relationships between the gut bacteriota and communities of gastro-intestinal helminths and pathogenic bacteria.

### *Spatial variations of gut bacteriota and their potential causes*

The gut microbiota of bank voles has been mainly examined in the context of exposure to radioactive pollutants (e.g., Lavrinienko (2018), but see [Knowles et al. \(2019\)](#)). In this study, we focused on localities sampled at a regional scale (100 km) along a North-South gradient in Eastern France.

We found significant inter-individual variations in the gut bacteriota composition although host factors such as gender and age played little role. Interestingly, we found that all individuals were clustered within two groups, which could be distinct enterotypes if longitudinal surveys confirmed this clustering through time ([Arumugam et al., 2011](#)).

Enterotypes have already been described in wild rodents ([Goertz et al., 2019](#); [Li et al., 2016](#)), and they might reflect distinct ways of generating energy from substrates available in the digestive tract, as well as differences in diet ([Rinninella et al., 2019](#); [Wang et al., 2014](#)).

These enterotypes could be associated with different diets in bank voles: one oriented toward seeds and plants and another one toward insects and berries. Indeed, enterotype 1 is characterized by families (namely, Helicobacteraceae, Lachnospiraceae and Muribaculaceae) that are involved in the breakdown of carbohydrates, fermentation of plant saccharid and degradation of glycan (see refs in [Goertz et al., 2019](#)). These families are also predictive signals of a high-fat diet in mice ([Bowerman et al., 2021](#); [Rodriguez-Daza et al., 2020](#)).

Conversely, enterotype 2 is characterized by families (namely, Lactobacillae and Eggerthellaceae) that can be involved in the digestion of fermented food (e.g., rodent food store over winter), and insect skeleton (see refs in [Maurice et al., 2015](#)) or in the degradation of polyphenol ([Rodriguez-Daza et al., 2020](#)). All these aliments have varying nutritional and chemical composition and may be part of bank vole diet ([Ecke et al., 2018](#)). The fraction of these different types of resources in bank vole diet may vary with resource preference or availabilities, reproductive status, sampling date and location (e.g., [Maurice et al., 2015](#)). It would be interesting to develop semi-natural experiments to survey rodent diet and gut microbiome through time, and analyse the link with enterotypes in bank voles ([Wang et al., 2014](#)).

There are now many evidence that the environment in which hosts evolve (through abiotic and biotic factors) is likely to shape variations in gut bacteriota composition between localities sampled and studies. Previous works have already shown that the structure of rodent gut microbiota varied between localities at large spatial scales due to biogeographic or genetic factors ([Linnenbrink et al., 2013](#)). Geographic variability has also been found at smaller spatial scales (e.g., few km [Goertz et al., 2019](#)). Here, our results provide significant evidence for spatial

structure of gut bacteriota between bank vole populations that are between 50 and 130 km away, with no clear barrier to dispersal or gene flow ([Dubois et al., 2018](#)).

We observed gradual changes between bank voles from the northern and southern populations in terms of gut bacteriota richness, evenness, composition and particularly Firmicutes/Bacteroidetes ratio. Although the links between the diversity and functional capacity of the gut bacteriota still need to be better understood ([Worsley et al., 2021](#)), it is largely assumed that changes in diversity are associated with shifts in metabolism ([Reese & Dunn, 2018](#)). Bank voles from southern populations exhibit higher specific richness and lower evenness of the gut bacteriota, as well as lower dispersion of gut bacteriota composition. They have higher levels of body condition and F/B ratio, which are indicative of an optimisation of calorie intake and absorption, weight gain and fat storage (see refs in [Wolf et al., 2021](#)).

Altogether, these results could suggest strong constraints on gut bacteriota function to maximise energy extraction. The northern populations show the opposite patterns. Lower BMI and lower levels of F/B ratio might reflect energy production and conversion, amino acid transport and metabolism. Diversity patterns (higher evenness and lower specific richness of the gut bacteriota) could suggest lower stochasticity and/or directional selection. Further studies are required to investigate the eco-evolutionary processes driving these changes in gut bacteriota.

Lastly, these differences in gut microbiota composition between the northern and southern populations might also reflect physiological variations related to physiology, health and (potentially) immunity. Indeed, Clostridiales and Bifidobacteriaceae participate in the maintenance of intestinal homeostasis, and in the regulation of inflammation or in the gut barrier function ([Arboleya et al., 2016](#); [Hakansson & Molin, 2011](#); [Lopetuso et al., 2013](#)). Specific taxa within Erysipelotrichaceae may be correlated with inflammation or have immunogenic potential ([Kaakoush, 2015](#); [Zhai et al., 2019](#)). Desulfovibrionales activities result in the production of H<sub>2</sub>S, which in turn negatively affects the gut barrier, production of endotoxins and pro-inflammatory cytokines ([Hu et al., 2022](#)). Our previous work revealed that bank voles from these southern populations had lower basal level of *Tnf-α* (a pro-inflammatory cytokine) and higher level of *Mx2* antiviral gene expression than those from these northern populations ([Dubois et al., 2018](#)). Future studies should assess (*i*) the potential relationships

between variations in gut bacteriota composition and (ii) the capacities to regulate or mount immune responses and inflammation in these bank vole populations.

### *Three-way relationships between intra-host communities*

At the community level, we have not found strong evidence for three-way relationships between the gut microbiota (diversity or composition), the gastro-intestinal helminth and pathogenic bacteria communities. Neither the specific richness nor the global composition of a given community are related to the richness or composition of the two other ones. By contrast, particular taxa seem to be involved in these three-way relationships.

First, some infections are significantly associated with the global composition of the gut bacteriota, but have only little impact on specific gut bacterial taxa. This result concerns two helminths *Heligmosomum mixtum*, *Aonchotheca murissylvatici* and the hemotrophic bacteria *Bartonella*. Opposite patterns are observed for the helminths and for the bacteria. They could reflect the antagonistic impacts of these infections on the gut bacteriota, or negative interactions between these pathogens. On one hand, some evidence suggests that *Bartonella* may be acting as a symbiont more than a pathogen ([McKee et al., 2021](#)). Significant coevolutionary congruence has been found between *Bartonella* species and their rodent hosts, and *Bartonella* infections in rodents lead to an asymptomatic long lasting intra-erythrocytic bacteraemia ([Deng et al., 2012](#); [Lei & Olival, 2014](#)). It would be interesting to test whether associations between *Bartonella* and gut bacteriota could corroborate the hypothesis of coadaptation between these bacteria and their rodent hosts (Hayman et al., 2013). On the other hand, some hookworms have been shown to induce changes in rodent gut bacteriota (review in [Mutapi, 2015](#)). Infection of mice with the nematode *Heligmosomoides polygyrus* (which is phylogenetically close from *Heligmosomum mixtum*) lead to an increased abundance of Lactobacillaceae in the gut microbiome ([Reynolds et al., 2014](#)), as suggested by the correlation detected in our study. Lastly, negative interactions between *H. mixtum* or *A. murissylvatici* and *Bartonella* are probable. Indeed gastro-intestinal hookworms are known to induce anaemia ([Seguel & Gottdenker, 2017](#)), while *Bartonella* invades and replicates in red blood cells. This resource limitation driven by helminths on erythrocyte-dependent infectious agents is an important driver of helminth-microparasite coinfection ([Graham, 2008](#)).

Therefore, the negative associations detected here between *Bartonella* and *H. mixtum* or *A. murissylvatici* – and their respective links with gut bacteriota composition – likely seem to be driven by potential complex antagonistic, synergistic and symbiotic interactions that need to be further explored.

Second, other infections are strongly associated with large changes in the relative abundance of one or few specific taxa from the gut bacteriota, but not with the global composition. Three bacterial infections (*Neoehrlichia* sp, *Orientia* sp and *Rickettsia* sp) as well as *P. omphalodes* infections exhibited the same pattern: they were associated with a lower relative abundance of Erysipelotrichaceae. It is striking to find such common associations for these infectious agents because observed changes in the gut microbiota during infection are rarely consistent, even for single pathogens ([Sabey et al., 2021](#)). The most obvious features shared between these infectious agents is that they are transmitted by arthropods. Unfortunately, knowledge on Erysipelotrichaceae and its links with infection or dysbiosis is still deficient to explain the pattern observed. To our knowledge, such associations have been investigated in humans only. They have shown that increased abundance of Erysipelotrichaceae could be associated with a number of diseases such as tuberculosis, HIV and norovirus infections, inflammation-related intestinal disease and metabolic disorders ([Kaakoush, 2015](#)). The reasons why *Neoehrlichia* sp, *Orientia* sp, *Rickettsia* sp or *P. omphalodes* infections are associated with a decreased abundance of Erysipelotrichaceae in bank voles remain to be investigated.

#### *Marked relationships between gut bacteriota and gastro-intestinal helminth communities*

While we do not detect three-way relationships between the whole composition of gut bacteriota, helminth and pathogenic bacteria communities, we highlight strong pairwise associations between helminth community and gut bacteriota. The former pattern might be explained by the fact that the pathogenic bacteria detected here do not constitute a functional community. The main reason is that their ecological niche can be very different. For example, hemotrophic *Mycoplasma* parasitizes erythrocytes ([Alabi et al., 2020](#)) while *Borrelia* disseminates through the bloodstream and/or lymphatic system to invade and colonize various tissue ([Zeidner et al., 2001](#)).

The strong associations between gastro-intestinal helminths and gut bacteriota may be interpreted under two perspectives. First, the strong positive associations between the

diversity of helminth community and gut bacteriota might corroborate the hypothesis. Besides, experimental evidence showed that helminths have the capacity to maintain higher gut microbiota diversity and may represent gut homeostasis ([Kreisinger et al., 2015](#)). Indeed, low-intensity, chronic helminth infections are commonly linked to high microbial diversity and predominance of bacteria typically associated with gut health ([Peachey et al., 2017](#)).

Nevertheless, this interpretation has to be taken cautiously as the diversity of both communities was strongly influenced by the localities of sampling. The environment might therefore shape similarly gut bacteriota and helminth community diversity.

Second, significant associations between helminth community and gut bacteriota composition which remain significant even when potential geographic confounding effects were removed – may be linked to the fact that both communities reside in the same environmental niche (host intestines). From there, they likely experience similar selection pressure (e.g., host immune responses) which could shape their composition ([Glendinning et al., 2014](#)). One could expect therefore potentially strong interactions and reciprocal influence between them, Unfortunately, the causal processes behind these gut microbiota and helminths interactions are complex, multifaceted and difficult to assess. This intricacy is amplified by the fact that experimental studies mostly focus on single helminth infections while interactions between/within community are the rule within host organisms. The field of microbiota research would thus benefit from taking into account the whole composition of gastro intestinal helminth community rather than single helminth infections only.

In this study, we also highlight a large number of species-specific associations between helminths infections and members of the gut bacteriota. High-intensity, acute helminth infections may correlate with changes in hosts gut microbiota, through direct and indirect interactions (e.g., immune or other processes such as malnutrition; [Peachey et al., 2017](#)). Nevertheless, the patterns of shifts in gut bacteriota associated with helminth infections remain hardly predictable so far. As such, research works addressing this issue with laboratory or wild animals have provided variable, and sometimes even contradictory conclusions. Most surprising is that these inconsistent patterns are also found when focusing on single host-helminth models. A potential explanation is that these infection-associated microbiota shifts could depend on the presence of other helminths and the duration of infection ([Sabey et al.,](#)

[2021](#)). Local interactions between helminths and between helminths and gut bacteria could mediate changes in infection outcomes as well as the gut bacteria and helminth populations themselves ([Glendinning \*et al.\*, 2014](#)).

### *Conclusion*

Altogether, these results emphasize complex interlinkages between gut bacteriota, gastro-intestinal helminths and bacterial infections in wild animal populations. We emphasize the strong impact of environment, even at fine geographical scales, on these interactions. Shifts in diet or host genetics could mediate the spatial changes observed in gut bacteriota. However, the processes shaping gut bacteriota diversity and composition are many and complex, and further investigations are required to decipher the relative importance of drift, dispersal or selection on bank vole gut bacteriota in the populations studied here. Besides, we find a diverse array of associations between gut bacteriota and gastro-intestinal helminths or pathogenic bacteria, some being significant at the scale of the whole community and other being species-specific only. Whether these patterns reflect coadaptation, dysbiosis or indirect interactions with host immunity and coinfections should now be considered to better understand the spatial variations observed in the relationships between gut bacteriota and health.

### *Funding*

This research was funded through the INRAE metaprogram MEM Hantagulomic and the 2018-2019 BiodivERSA joint call for research proposals, under the BiodivERSA3 ERA-Net COFUND programme, and with the funding organization ANR. A. Dubois PhD was funded by an INRA-EFPA/ANSES fellowship.

### *Conflict of interest disclosure*

The authors declare that they have no financial conflict of interest with the content of this article. N. C. is one of the PCI Inf recommenders. B.R. is part of the managing board of PCI Inf.

### *Data and script availability*

Raw data and scripts are available on zenodo: <https://doi.org/10.5281/zenodo.7433800>

### *Supplementary information*

All supplementary materials are available on zenodo :

<https://doi.org/10.5281/zenodo.7431842>

**Supplementary Figure S1.** Maps showing the sampling area (left) and localities (right) in France. Forests are indicated in green and water in blue. The four sampling localities are represented with a colored polygon. The arrow indicates the North.

**Supplementary Figure S2.** Composition of the gut bacteriota. The relative abundance of six phyla representing 99% of the total composition is represented. Individuals are grouped by sampling localities, which are ordered from North to South. (A) Bar graph shows individual variation in phyla composition (phylum=color). (B) Box and whisker plots represent median and interquartile values for each phylum. Black dots correspond to mean values, and colored dots correspond to individuals.

**Supplementary Figure S3.** Variations of alpha diversity with individual factors, for the gut bacteriota (family level), pathogenic bacteria and gastro-intestinal helminths of bank voles. Alpha diversity is estimated using the specific richness (A, B and C) and the Shannon index (D, E and F). In graphs C and F, the blue line corresponds to the linear regression line.

**Supplementary Figure S4.** Relationships between the composition of the gut bacteriota, pathogenic bacteria and gastro-intestinal helminth communities: The db-RDA triplot shows the structure of the gut bacteriota at the phylum level and the correlations with the intra-host parasite communities. The arrows correspond to the significant explanatory variables. Each point corresponds to an individual, and the colors correspond to the different sampling localities.

**Supplementary Table S1.** Variation of the Firmicutes/Bacteroidetes ratio with localities and individual factors.

**Supplementary Table S2.** Alpha diversity metrics and statistics for the gut bacteriota, pathogenic bacteria and helminth communities of bank voles.

**Supplementary Table S3.** Beta diversity metrics and statistics for the gut bacteriota, pathogenic bacteria and helminth communities of bank voles.

#### **AUTHOR CONTRIBUTIONS**

M.B.: Data curation; Formal analysis; Methodology; Writing – original draft

M.G.: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Methodology; Supervision; Writing review and editing

A.D.: Conceptualization; Data curation

C.A.D.: Data curation; Writing – review and editing

P.M.: Conceptualization; Funding acquisition; Investigation; Supervision; Writing – review and editing

B.R.: Conceptualization; Methodology; Supervision; Writing – review and editing

N.C.: Conceptualization; Funding acquisition; Investigation; Methodology; Project administration; Resources; Supervision; Writing – original draft

#### **Acknowledgement**

Data used in this work were partly produced through the genotyping and sequencing facilities of ISEM (Institut des Sciences de l'Evolution-Montpellier) and Labex CeMEB (Centre Méditerranéen Environnement Biodiversité).

#### **F. REFERENCES**

1. Abbate, J., Galan, M., Razzauti, M., et al. (In\_revision). Pathogen community composition and co-infection patterns in a wild community of rodents. *PCI Ecology*. doi:10.1101/2020.02.09.940494 [Abstract/FREE Full Text](#) [Google Scholar](#)



2. Adair, K. L., Douglas, A. E. (2017). Making a microbiome: the many determinants of host-associated microbial community composition. *Current Opinion in Microbiology*, 35, 23–29.  
doi:10.1016/j.mib.2016.11.002  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
3. Alabi, A. S., Monti, G., Otth, C., et al. (2020). Molecular survey and genetic diversity of Hemoplasmas in rodents from Chile. *Microorganisms*, 8(10). doi:10.3390/microorganisms8101493  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
4. Anderson, R. C., Chabaud, A. G., Willmott, S. (2009). *Keys to the nematode parasites of vertebrates: archival volume*. CABI, Wallingford, Oxon, UK.  
[Google Scholar](#)
5. Arboleya, S., Watkins, C., Stanton, C., et al. (2016). Gut Bifidobacteria populations in human health and aging. *Frontiers in Microbiology*, 7. doi:10.3389/fmicb.2016.01204  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
6. Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., et al. (2011). Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, 473(7346), 174–180. doi:10.1038/nature09944  
[CrossRefPubMedWeb of ScienceGoogle Scholar](#)
7. Belkaid, Y., Hand, T. W. (2014). Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell*, 157(1), 121–141. doi:10.1016/j.cell.2014.03.011  
[CrossRefPubMedWeb of ScienceGoogle Scholar](#)
8. Bowerman, K. L., Knowles, S. C. L., Bradley, J. E., et al. (2021). Effects of laboratory domestication on the rodent gut microbiome. *ISME Communications*, 1(1), 49. doi:10.1038/s43705-021-00053-9  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
9. Camacho, C., Coulouris, G., Avagyan, V., et al. (2009). BLAST+: architecture and applications. *BMC Bioinformatics*, 10, 421. doi:10.1186/1471-2105-10-421  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
10. Clemente, J. C., Ursell, L. K., Parfrey, L. W., et al. (2012). The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell*, 148(6), 1258–1270. doi:10.1016/j.cell.2012.01.035  
[CrossRefPubMedWeb of ScienceGoogle Scholar](#)
11. Cortes, A., Peachey, L.E., Jenkins, T.P. et al. (2019). Helminths and microbes within the vertebrate gut - not all studies are created equal. *Parasitology* 146,1371-1378. doi:10.1017/S003118201900088x  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
12. Deng, H. K., Le Rhun, D., Buffet, J. P. R., et al. (2012). Strategies of exploitation of mammalian reservoirs by Bartonella species. *Veterinary Research*, 43. doi:10.1186/1297-9716-43-15  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
13. Diagne, C. A., Charbonnel, N., Henttonen, H., et al. (2017). Serological survey of zoonotic viruses in invasive and native commensal rodents in Senegal, West Africa. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 17(10), 730–733. doi:10.1089/vbz.2017.2135  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
14. Dubois, A., Castel, G., Murri, S., et al. (2018). Bank vole immunoheterogeneity may limit nephropatia epidemica emergence in a French non-endemic region. *Parasitology*, 145, 393–407.  
doi:10.1017/S0031182017001548  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
15. Ecke, F., Berglund, A. M., Rodushkin, I., et al. (2018). Seasonal shift of diet in bank voles explains trophic fate of anthropogenic osmium? *Science of the Total Environment*, 624, 1634–1639.  
doi:10.1016/j.scitotenv.2017.10.056  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
16. Escudié, F., Auer, L., Bernard, M., et al. (2018). FROGS: Find Rapidly OTU with Galaxy Solution. *Bioinformatics*, 34, 1287–1294.  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
17. Galan, M., Razzauti, M., Bard, E., et al. (2016). 16S metagenomics for epidemiological survey of bacteria in wildlife. *mSystem*, 1(4), e00032–00016. doi:10.1128/mSystems.00032-16  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
18. Glendinning, L., Nausch, N., Free, A., et al. (2014). The microbiota and helminths: sharing the same niche in the human host. *Parasitology*, 141(10), 1255–1271. doi:10.1017/S0031182014000699  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)

19. Goertz, S., de Menezes, A. B., Birtles, R. J., et al. (2019). Geographical location influences the composition of the gut microbiota in wild house mice (*Mus musculus domesticus*) at a fine spatial scale. *Plos One*, 14(9). doi:10.1371/journal.pone.0222501  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
20. Graham, A. L. (2008). Ecological rules governing helminth-microparasite coinfection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(2), 566–570. doi:10.1073/pnas.0707221105  
[Abstract/FREE Full TextGoogle Scholar](#)
21. Haegeman, B., Hamelin, J., Moriarty, J., et al. (2013). Robust estimation of microbial diversity in theory and in practice. *Isme Journal*, 7(6), 1092–1101. doi:10.1038/ismej.2013.10  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
22. Hakansson, A., Molin, G. (2011). Gut microbiota and inflammation. *Nutrients*, 3(6), 637–682. doi:10.3390/nu3060637  
[CrossRefPubMedWeb of ScienceGoogle Scholar](#)
23. Haukialmi, V., Henttonen, H. Coexistence in helminths of the bank vole *Clethrionomys glareolus*. I. Patterns of co-occurrence. *Journal of Animal Ecology* 62, 221–229  
[Google Scholar](#)
24. Hoarau, A. O. G., Mavingui, P., Lebarbenchon, C. (2020). Coinfections in wildlife: Focus on a neglected aspect of infectious disease epidemiology. *Plos Pathogens*, 16(9). doi:10.1371/journal.ppat.1008790  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
25. Holmes, I., Harris, K., Quince, C. (2012). Dirichlet multinomial mixtures: Generative models for microbial metagenomics. *Plos One*, 7(2). doi:10.1371/journal.pone.0030126  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
26. Honda, K., Littman, D. R. (2016). The microbiota in adaptive immune homeostasis and disease. *Nature*, 535(7610), 75–84. doi:10.1038/nature18848  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
27. Hothorn, T., Bretz, F., Westfall, P. (2008). Simultaneous inference in general parametric models. *Biometrical Journal*, 50(3), 346–363. doi:10.1002/bimj.200810425  
[CrossRefPubMedWeb of ScienceGoogle Scholar](#)
28. Hu, H., Shao, W. T., Liu, Q., et al. (2022). Gut microbiota promotes cholesterol gallstone formation by modulating bile acid composition and biliary cholesterol secretion. *Nature Communications*, 13(1). doi:10.1038/s41467-021-27758-8  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
29. Johnson, J. B., Omland, K. S. (2004). Model selection in ecology and evolution. *Trends in Ecology and Evolution*, 19, 101–108.  
[Google Scholar](#)
30. Johnson, P. T., de Roode, J. C., Fenton, A. (2015). Why infectious disease research needs community ecology. *Science*, 349(6252), 1259504. doi:10.1126/science.1259504  
[Abstract/FREE Full TextGoogle Scholar](#)
31. Kaakoush, N. O. (2015). Insights into the role of *Erysipelotrichaceae* in the human host. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 5. doi:10.3309/fcimb.2015.00004  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
32. Kamada, N., Chen, G. Y., Inohara, N., et al. (2013). Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota. *Nature Immunology*, 14(7), 685–690. doi:10.1038/ni.2608  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
33. Karst, S.M., Wobus, C.E. (2019). Viruses and the microbiome. *Current Opinion in Virology* 37, III-VI. doi:10.1016/j.coviro.2019.06.012  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
34. Khalil, L. F., Jones, A., Bray, R. A. (1994). *Keys to the cestode parasites of Vertebrates*. CAB International, Wallingford, Oxon, UK.  
[Google Scholar](#)
35. Khosravi, A., Mazmanian, S. K. (2013). Disruption of the gut microbiome as a risk factor for microbial infections. *Current Opinion in Microbiology*, 16(2), 221–227. doi:10.1016/j.mib.2013.03.009  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
36. Kim, C. H. (2021). Control of lymphocyte functions by gut microbiota-derived short-chain fatty acids. *Cellular & Molecular Immunology*, 18(5), 1161–1171. doi:10.1038/s41423-020-00625-0  
[CrossRefGoogle Scholar](#)

37. Knowles, S. C. L., Eccles, R. M., Baltrunaite, L. (2019). Species identity dominates over environment in shaping the microbiota of small mammals. *Ecology Letters*, 22(5), 826–837. doi:10.1111/ele.13240  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
38. Kolodny, O., Schulenburg, H. (2020). Microbiome-mediated plasticity directs host evolution along several distinct time scales. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 375(1808). doi:10.1098/rstb.2019.0589  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
39. Kozich, J. J., Westcott, S. L., Baxter, N. T., et al. (2013). Development of a dual-index sequencing strategy and curation pipeline for analyzing amplicon sequence data on the MiSeq Illumina sequencing platform. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(17), 5112–5120. doi:10.1128/aem.01043-13  
[Abstract/FREE Full TextGoogle Scholar](#)
40. Kreisinger, J., Bastien, G., Hauffe, H. C., et al. (2015). Interactions between multiple helminths and the gut microbiota in wild rodents. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 370(1675). doi:10.1098/rstb.2014.0295  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
41. Lahti, L., Shetty, S. (2017). microbiome R package. Bioconductor. doi: 10.18129/B9.bioc.microbiome  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
42. Lawson, M.A.E., Roberts, I.S., Grencis, R.K. (2021). The interplay between *Trichuris* and the microbiota. *Parasitology* 148, 1806–1813. doi:10.1017/s0031182021000834  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
43. Lavrinienko, A., Mappes, T., Tukalenko, E., et al. (2018). Environmental radiation alters the gut microbiome of the bank vole *Myodes glareolus*. *Isme Journal*, 12(11), 2801–2806. doi:10.1038/s41396-018-0214-x  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
44. Lei, B. N. R., Olival, K. J. (2014). Contrasting patterns in mammal-bacteria coevolution: *Bartonella* and *Leptospira* in bats and rodents. *Plos Neglected Tropical Diseases*, 8(3). doi:10.1371/journal.pntd.0002738  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
45. Leung, J. M., Graham, A. L., Knowles, S. C. L. (2018). Parasite-microbiota interactions with the vertebrate gut: Synthesis through an ecological lens. *Frontiers in Microbiology*, 9. doi:10.3389/fmicb.2018.00843  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
46. Ley, R. E., Hamady, M., Lozupone, C., et al. (2008). Evolution of mammals and their gut microbes. *Science*, 320(5883), 1647–1651. doi:10.1126/science.1155725  
[Abstract/FREE Full TextGoogle Scholar](#)
47. Li, H., Li, T. T., Beasley, D. E., et al. (2016). Diet diversity is associated with beta but not alpha diversity of pika gut microbiota. *Frontiers in Microbiology*, 7. doi:10.3389/fmicb.2016.01169  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
48. Linnenbrink, M., Wang, J., Hardouin, E. A., et al. (2013). The role of biogeography in shaping diversity of the intestinal microbiota in house mice. *Molecular Ecology*, 22(7), 1904–1916. doi:10.1111/mec.12206  
[CrossRefWeb of ScienceGoogle Scholar](#)
49. Loke, P., Lim, Y. A. L. (2015). Helminths and the microbiota: parts of the hygiene hypothesis. *Parasite Immunology*, 37(6), 314–323. doi:10.1111/pim.12193  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
50. Lopetuso, L. R., Scaldaferrri, F., Petito, V., et al. (2013). Commensal *Clostridia*: leading players in the maintenance of gut homeostasis. *Gut Pathogens*, 5. doi:10.1186/1757-4749-5-23  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
51. Magoc, T., Salzberg, S. L. (2011). FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics*, 27(21), 2957–2963. doi:10.1093/bioinformatics/btr507  
[CrossRefPubMedWeb of ScienceGoogle Scholar](#)
52. Mahe, F., Rognes, T., Quince, C., et al. (2014). Swarm: robust and fast clustering method for amplicon-based studies. *Peerj*, 2. doi:10.7717/peerj.593  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
53. Martin, M. (2011). Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet journal*, 17, 10–12. doi:10.14806/ej.17.1.200  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
54. Maurice, C. F., Knowles, S. C. L., Ladau, J., et al. (2015). Marked seasonal variation in the wild mouse gut microbiota. *Isme Journal*, 9(11), 2423–2434. doi:10.1038/ismej.2015.53

- [CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
55. McDonald, J.E., Marchesi, J.R., Koskella, B. (2020). Application of ecological and evolutionary theory to microbiome community dynamics across systems. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 287. doi:10.1098/rspb.2020.2886  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
  56. McKee, C.D., Bai, Y., Webb, C.T. et al. (2021). Bats are key hosts in the radiation of mammal-associated *Bartonella* bacteria. *Infection Genetics and Evolution* 89. doi:10.1016/j.meegid.2021.104719  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
  57. McKnight, D. T., Huerlimann, R., Bower, D. S., et al. (2019). Methods for normalizing microbiome data: An ecological perspective. *Methods in Ecology and Evolution*, 10(3), 389–400. doi:10.1111/2041-210x.13115  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
  58. McMurdie, P. J., Holmes, S. (2013). phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *Plos One*, 8(4), e61217. doi:10.1371/journal.pone.0061217  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
  59. Mills, J. N., Childs, J., Ksiazek, T. G., et al. (1995). *Methods for trapping and sampling small mammals for virologic testing*. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention.  
[Google Scholar](#)
  60. Montgomery, S.S.J., Montgomery, W.I. (1989). Spatial and temporal variation in the infracommunity structure of helminths of *Apodemus sylvaticus* (Rodentia: Muridae). *Parasitology* 98, 145–150  
[Google Scholar](#)
  61. Moran, N. A., Ochman, H., Hammer, T. J. (2019). Evolutionary and ecological consequences of gut microbial communities. *Annual Review of Ecology Evolution Systematics*, 50(1), 451–475. doi:10.1146/annurev-ecolsys-110617-062453  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
  62. Morgan, M. (2021). Dirichlet-multinomial mixture model machine learning for microbiome data.  
[Google Scholar](#)
  63. Mutapi, F. (2015). The gut microbiome in the helminth infected host. *Trends in Parasitology*, 31(9), 405–406. doi:10.1016/j.pt.2015.06.003  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
  64. Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., et al. (2020). *vegan: Community Ecology Package*.  
[Google Scholar](#)
  65. Pascoe, E. L., Hauffe, H. C., Marchesi, J. R., et al. (2017). Network analysis of gut microbiota literature: an overview of the research landscape in non-human animal studies. *Isme Journal*, 11(12), 2644–2651. doi:10.1038/ismej.2017.133  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
  66. Peachey, L. E., Jenkins, T. P., Cantacessi, C. (2017). This gut ain't big enough for both of us. Or is it? Helminth-microbiota interactions in veterinary species. *Trends in Parasitology*, 33(8), 619–632. doi:10.1016/j.pt.2017.04.004  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
  67. Pfeiffer, J.K., Sonnenburg, J.L. (2011). The intestinal microbiota and viral susceptibility. *Frontiers in Microbiology* 2. doi:10.3389/fmicb.2011.00092  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
  68. Reese, A. T., Dunn, R. R. (2018). Drivers of microbiome biodiversity: A review of general rules, feces, and ignorance. *Mbio*, 9(4). doi:10.1128/mBio.01294-18  
[Abstract/FREE Full TextGoogle Scholar](#)
  69. Revell, L. J. (2012). phytools: an R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods in Ecology and Evolution*, 3(2), 217–223. doi:10.1111/j.2041-210X.2011.00169.x  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
  70. Reynolds, L. A., Smith, K. A., Filbey, K. J., et al. (2014). Commensal-pathogen interactions in the intestinal tract *Lactobacilli* promote infection with, and are promoted by, helminth parasites. *Gut Microbes*, 5(4), 522–532. doi:10.4161/gmic.32155  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
  71. Ribas Salvador, A., Guivier, E., Chaval, Y., et al. (2011). Concomitant influence of helminth infection and landscape on the distribution of Puumala hantavirus in its reservoir, *Myodes glareolus*. *BMC Microbiology*, 11(30), 1–13. doi:<http://www.biomedcentral.com/1471-2180/11/30>  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)

72. Rinninella, E., Raoul, P., Cintoni, M., et al. (2019). What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. *Microorganisms*, 7(1). doi:10.3390/microorganisms7010014  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
73. Rodriguez-Daza, M. C., Roquim, M., Dudonne, S., et al. (2020). Berry polyphenols and fibers modulate distinct microbial metabolic functions and gut microbiota enterotype-like clustering in obese mice. *Frontiers in Microbiology*, 11. doi:10.3389/fmicb.2020.02032  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
74. Rolhion, N., Chassaing, B. (2016). When pathogenic bacteria meet the intestinal microbiota. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 371(1707). doi:10.1098/rstb.2015.0504  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
75. Rosenfeld, C. S. (2017). Gut dysbiosis in animals due to environmental chemical exposures. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7. doi:10.3389/fcimb.2017.00396  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
76. Rosshart, S.P., Vassallo, B.G., Angeletti, D. et al. (2017). Wild mouse gut microbiota promotes host fitness and improves disease resistance. *Cell* 171, 1015. doi:10.1016/j.cell.2017.09.016  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
77. Round, J. L., Mazmanian, S. K. (2009). The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nature Reviews Immunology*, 9(5), 313–323. doi:10.1038/nri2515  
[CrossRefPubMedWeb of ScienceGoogle Scholar](#)
78. Sabey, K. A., Song, S. J., Jolles, A., et al. (2021). Coinfection and infection duration shape how pathogens affect the African buffalo gut microbiota. *ISME Journal*, 15(5), 1359–1371. doi:10.1038/s41396-020-00855-0  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
79. Salter, S. J., Cox, M. J., Turek, E. M., et al. (2014). Reagent and laboratory contamination can critically impact sequence-based microbiome analyses. *BMC Biology*, 12, 87. doi:10.1186/s12915-014-0087-z  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
80. Seguel, M., Gottdenker, N. (2017). The diversity and impact of hookworm infections in wildlife. *International Journal for Parasitology-Parasites and Wildlife*, 6(3), 177–194. doi:10.1016/j.ijppaw.2017.03.007  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
81. Stothart, M.R., Palme, R., Newman, A.E.M. (2019). It's what's on the inside that counts: stress physiology and the bacterial microbiome of a wild urban mammal. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 286. doi:10.1098/rspb.2019.2111  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
82. Suzuki, T. A., Nachman, M. W. (2016). Spatial heterogeneity of gut microbial composition along the gastrointestinal tract in natural populations of house mice. *Plos One*, 11(9). doi:10.1371/journal.pone.0163720  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
83. team, R. c. (2020). *A language and environment for statistical computing.*: Austria, Vienna.  
[Google Scholar](#)
84. Telfer, S., Lambin, X., Birtles, R., et al. (2010). Species interactions in a parasite community drive infection risk in a wildlife population. *Science*, 330(6001), 243–246. doi:10.1126/science.1190333  
[Abstract/FREE Full TextGoogle Scholar](#)
85. Trevelline, B. K., Fontaine, S. S., Hartup, B. K., et al. (2019). Conservation biology needs a microbial renaissance: a call for the consideration of host-associated microbiota in wildlife management practices. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 286(1895). doi:10.1098/rspb.2018.2448  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
86. Vujkovic-Cvijin, I., Sklar, J., Jiang, L., et al. (2020). Host variables confound gut microbiota studies of human disease. *Nature*, 587(7834), 448–454. doi:10.1038/s41586-020-2881-9  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
87. Wang, J., Linnenbrink, M., Kunzel, S., et al. (2014). Dietary history contributes to enterotype-like clustering and functional metagenomic content in the intestinal microbiome of wild mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(26), E2703–E2710. doi:10.1073/pnas.1402342111  
[Abstract/FREE Full TextGoogle Scholar](#)

88. Winkler, E.S., Thackray, L.B. (2019). A long-distance relationship: the commensal gut microbiota and systemic viruses. *Current Opinion in Virology* 37, 44–51. doi:10.1016/j.coviro.2019.05.009  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
89. Wolf, J. F., Kriss, K. D., MacAulay, K. M., et al. (2021). Gut microbiome composition predicts summer core range size in two divergent ungulates. *FEMS Microbiology Ecology*, 97(5). doi:10.1093/femsec/fiab048  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
90. Worsley, S. F., Davies, C. S., Mannarelli, M. E., et al. (2021). Gut microbiome composition, not alpha diversity, is associated with survival in a natural vertebrate population. *Animal Microbiome*, 3(1). doi:10.1186/s42523-021-00149-6  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
91. Zaiss, M.M., Rapin, A., Lebon, L. et al. (2015). The intestinal microbiota contributes to the ability of helminths to modulate allergic inflammation. *Immunity* 43, 998. doi:10.1016/j.immuni.2015.09.012  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
92. Zeidner, N. S., Schneider, B. S., Dolan, M. C., et al. (2001). An analysis of spirochete load, strain, and pathology in a model of tick-transmitted Lyme borreliosis. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 1(1), 35-+. doi:10.1089/153036601750137642  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)
93. Zhai, S., Qin, S., Li, L., et al. (2019). Dietary butyrate suppresses inflammation through modulating gut microbiota in high-fat diet-fed mice. *FEMS Microbiology Letters*, 366(13). doi:10.1093/femsle/fnz153  
[CrossRefGoogle Scholar](#)
94. Zheng, D.P., Liwinski, T., Elinav, E. (2020). Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Research* 30, 492–506. doi:10.1038/s41422-020-0332-7  
[CrossRefPubMedGoogle Scholar](#)

[Supplementary Material](#)

[Data/Code](#)

[Revision Summary](#)



### III. Conclusion

Cette étude figurait parmi les premières à considérer conjointement les interactions entre bactéries pathogènes, helminthes et bactéries commensales.

Nous avons pu mettre en évidence que l'environnement (intra-hôte et externe) pouvait agir comme un filtre écologique important agissant simultanément sur plusieurs communautés intra-hôtes. Ainsi, la diversité et la composition des communautés d'helminthes et le microbiote intestinal étaient corrélées entre elles, en lien avec le gradient géographique longitudinal d'échantillonnage. En revanche, une telle corrélation n'est pas retrouvée pour les communautés présentes dans des organes différents (microbiote intestinal versus bactéries pathogènes ; helminthes gastrointestinaux versus bactéries pathogènes).

De nombreuses interactions significatives ont été observées entre l'abondance de certaines familles bactériennes du microbiote intestinal et la présence de certaines bactéries ou helminthes pathogènes. Mais seulement trois taxons de bactéries pathogènes et helminthes ont permis de mettre en évidence un lien entre ces infections et la structure globale du microbiote intestinal. Cela suggère que les relations entre ces communautés et les taxons qui les composent sont complexes, résultant à la fois de processus coévolutifs (ex des taxons présents en sympatrie dans le tractus intestinal, évoluant en réponse aux pressions sélectives exercées par ce même environnement, et les uns sur les autres) et de perturbations actuelles (ex des infections et coinfections).

**Ainsi, cette étude confirme la nécessité de ne plus étudier de façon isolée les communautés d'organismes intra-hôtes, pathogènes ou commensales, mais de prendre en compte les multiples interactions qui façonnent ces assemblages. Dans le futur, il serait intéressant d'ajouter à ces études l'analyse des facteurs individuels (génétique, immunité, comportement...) qui peuvent également influencer ces assemblages et leurs interactions.**

## Discussion Générale

### I. Synthèse générale

Les objectifs de cette thèse étaient de comprendre les liens complexes entre la biodiversité des petits mammifères, leur microbiote intestinal et les pathogènes le long d'un gradient d'anthropisation (Fig.1).

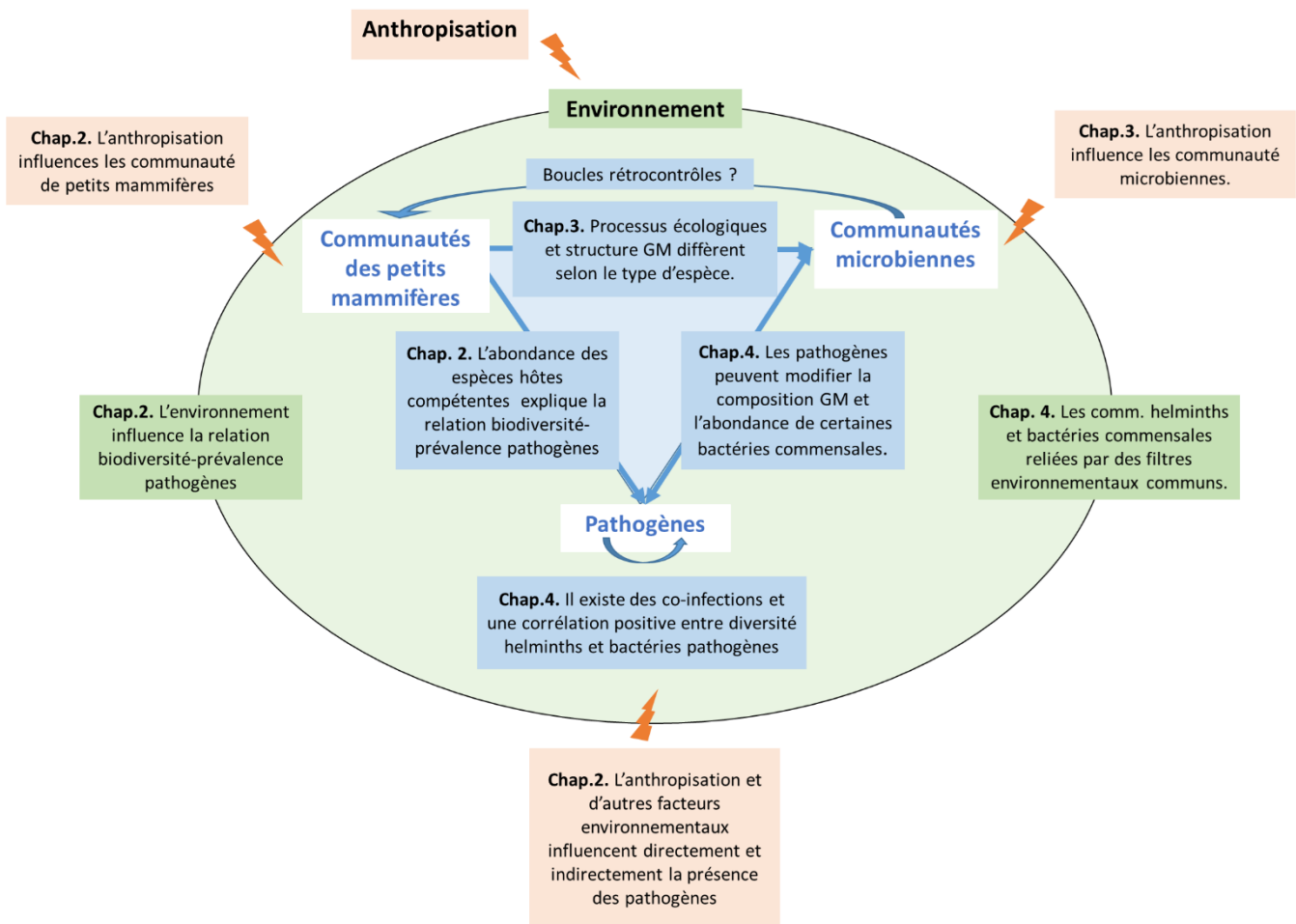


Fig.1. Schéma bilan des liens entre biodiversité des petits mammifères, leur microbiote et les pathogènes (en bleu) selon les effets d'anthropisation (en rouge) ou de l'environnement (en vert) (GM= Gut microbiota =microbiote intestinal).

**Le premier chapitre** nous a permis d'avoir un large panorama de l'étude, tant en terme de méthodes développées qu'en terme de description et de caractérisation du système hôte-pathogène-environnement analysé. Premièrement, les analyses spatiales ont montré des variations environnementales et anthropiques permettant de distinguer les sites selon un gradient d'anthropisation. Deuxièmement, les espèces de petits mammifères capturées présentaient des traits écologiques contrastés, leur permettant de s'adapter à des habitats ou



à des gammes d'habitats différents, notamment le long du gradient d'anthropisation. Les individus d'une même espèce présentaient des variations de leur abondance, de leur composition en groupes fonctionnels (âge, sexe) et de leur « santé » ou sensibilité aux parasites. Troisièmement, nous avons détecté un grand nombre de pathogènes chez de nombreuses espèces hôtes tout au long des campagnes d'échantillonnage et sur tous les sites. La circulation de ces pathogènes montrait des fluctuations spatio-temporelles et la prévalence observée dépendait de l'espèce hôte et du groupe fonctionnel de l'hôte. Certains de ces pathogènes représentent des dangers zoonotiques majeurs en raison de leur prévalence élevée ou de leur virulence chez l'humain, ce qui peut entraîner des conséquences sanitaires, sociales et économiques significatives.

**Le deuxième chapitre** nous a permis d'évaluer l'influence de la diversité des petits mammifères sur la prévalence des pathogènes. Nous avons démontré que, même en prenant en considération les effets directs et indirects de l'environnement, l'abondance relative des hôtes les plus compétents était le facteur déterminant de la relation entre biodiversité et prévalence. Ainsi, dans n'importe quel contexte environnemental, si la composition de la communauté de petits mammifères était perturbée en faveur d'une espèce hôte par rapport aux autres espèces moins compétentes pour un pathogène donné, cela avait pour conséquence d'augmenter la circulation de ce dernier.

Nous avons également démontré par une approche de modélisation épidémiologique que les stratégies visant à réduire l'abondance de certaines espèces hôtes, telles que la dératisation, étaient efficaces pour réduire la circulation de pathogènes (ici l'Orthohantavirus Seoul dont le rat est réservoir), à condition que la diversité de la communauté de petits mammifères ne soit pas affectée par cette stratégie de gestion. Dans le cas contraire, ces stratégies pouvaient avoir un effet contre-productif i) en favorisant les hôtes les plus résistants et compétents, aux dépens des espèces moins ou non compétentes et ii) en augmentant la circulation de SEOV, notamment en entraînant une perte de richesse spécifique, ce qui conduisait à la perte de l'effet protecteur de la diversité.

**Le troisième chapitre** a mis en évidence les conséquences de l'urbanisation sur les communautés de petits mammifères ainsi que sur leur microbiote intestinal. La répartition des espèces de petits mammifères différait le long du gradient d'urbanisation, incluant des espèces qui évitaient ces environnements, des espèces qui s'adaptaient, et des espèces typiquement

citadines. Ces différentes catégories d'espèces présentaient des communautés microbiennes intestinales de caractéristiques différentes, qu'il s'agisse de leur composition, de leur diversité, et des processus écologiques qui façonnent cet assemblage microbien.

**Le quatrième chapitre** nous a permis de mettre en évidence les interactions complexes intra-hôtes, qui relient des espèces différentes au sein d'une même communauté microbienne commensale ou pathogène, ou au sein d'une communauté de macroparasites (ici les helminthes), et qui existent également entre ces communautés. Bien que des facteurs environnementaux partagés influencent conjointement la diversité et la composition des communautés d'helminthes et de bactéries commensales, les résultats de cette thèse montrent qu'il existe également une influence réciproque entre ces deux communautés. Ces interactions complexes soulignent l'importance de considérer les micro-organismes comme des communautés, caractérisées par de multiples interactions complexes.

## II. Importance de l'écologie des communautés en écologie de la santé

### A. Une meilleure compréhension des corrélations entre les indices de diversité de différentes communautés

Il est maintenant reconnu que le danger zoonotique émerge ou se maintient dans des communautés d'hôtes, de vecteurs, et fait intervenir une diversité d'agents pathogènes en interaction. A partir de ce postulat, nous avons cherché à comprendre les processus écologiques qui façonnent ces assemblages et leurs interactions complexes. Pour cela, nous avons appliqué des méthodes bien établies de l'écologie des communautés. Cela comprend l'étude de la diversité intra-communauté, également connue sous le nom de diversité alpha. Nous avons utilisé divers indices pour évaluer cette diversité, notamment la richesse spécifique, l'indice de Shannon, ainsi que des indices prenant en compte la phylogénie des espèces. De plus, nous avons examiné la diversité inter-communauté, appelée diversité beta, pour comparer la composition des communautés entre sites ou dates d'échantillonnage, entre espèces ou groupes fonctionnels par exemple. Là aussi nous avons pu utiliser différents indices prenant en compte la présence, l'abondance ou la phylogénie des taxons composant ces communautés. Ces approches d'écologie des communautés nous ont permis de mieux comprendre les relations complexes entre la diversité des communautés de petits mammifères ou du microbiote intestinal et la circulation des agents pathogènes.

Contrairement à ce qu'il pouvait être attendu, nous avons montré que l'anthropisation n'avait pas forcément un impact négatif sur la diversité des communautés. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ce phénomène. Tout d'abord, les forêts sont particulièrement vulnérables aux impacts anthropiques, ce qui pourrait entraîner une perte de diversité significative dans ces milieux considérés dans notre étude comme moyennement anthropisés en comparaison avec les parcs urbains (Guégan et al., 2023). De plus, plusieurs espèces de petits mammifères ont la capacité de s'adapter aux environnements urbains. Le fait qu'il y ait peu d'espèces qui occupent les niches écologiques dans ces milieux, en particulier les prédateurs, en fait une sorte de réserve pour les petits mammifères adaptés (Ofori et al., 2018). En outre, il est possible que la diversité soit plus importante dans les parcs urbains en périphérie des villes, que ce soit au niveau microbien ou des petits mammifères, en raison de la coexistence d'espèces adaptées aux milieux urbains et ruraux, ce qui pourrait être expliqué par l'hypothèse de perturbation intermédiaire (Sheil & Burslem, 2013).

Une autre hypothèse à considérer est que nos mesures de diversité pourraient être biaisées (Shade, 2016). Premièrement, il est possible que la question de l'échelle taxonomique et/ou spatiale soit en jeu. Nous avons analysé la diversité des hôtes en nous focalisant sur les petits mammifères uniquement, mais la diversité des espèces en interactions formant la communauté écologique, *i.e.*, incluant les autres espèces de mammifères ou les vecteurs, pourrait donner des patrons de variation en lien avec le gradient d'anthropisation différents de ceux décrits dans cette étude. De plus, nous nous sommes concentrés sur nos relevés d'échantillonnage pour décrire la diversité de petits mammifères, qui représente une échelle géographique très fine. Or, à une échelle spatiale plus large, l'évaluation de la diversité des petits mammifères donne des résultats assez différents (Wint et al., 2013). La diversité des petits mammifères modélisée dans l'étude de Wint montrait clairement des valeurs plus importantes dans les forêts protégées et les forêts gérées que dans les parcs boisés en milieu urbain.

Enfin, la diversité des communautés de petits mammifères a ici uniquement été mesurée en termes de taxons. Or, la richesse fonctionnelle ou phylogénétique pourrait être plus informative et donner des patrons plus contrastés que la richesse taxonomique, comme abordé dans le **Chapitre 3** pour le microbiote intestinal. En particulier, une approche d'écologie

des communautés centrée sur les traits fonctionnels (Loreau, 2010), plutôt que sur les espèces en tant que tel, pourrait offrir une perspective plus pertinente sur les relations anthropisation et diversité.

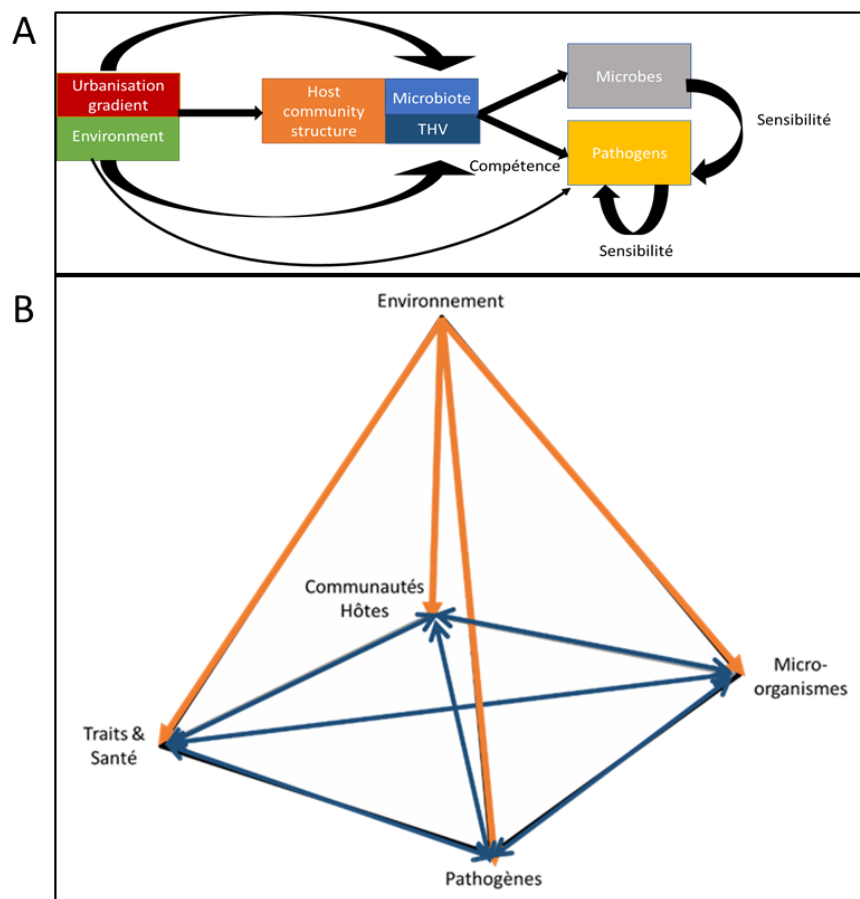
#### B. Une meilleure compréhension de l'influence relative des processus déterministes et stochastiques dans l'assemblage des communautés

D'un point de vue général, les approches d'écologie des communautés permettent également de poser un cadre théorique permettant d'évaluer les mécanismes qui façonnent les communautés. Nous avons appliqué ce cadre à l'étude des communautés microbiennes. Nous avons émis l'hypothèse que les effets stochastiques pourraient jouer un rôle prépondérant en cas de perturbations anthropiques, ce qui pourrait entraîner une dysbiose, en accord avec le postulat d'Anna Karenine (Zaneveld et al., 2017). En revanche, nous n'avons pas appliqué ce cadre à l'étude des processus qui influencent la structure des communautés de petits mammifères. Or celles-ci sont également soumises à la sélection, la dispersion et la dérive (Zhou & Ning, 2017a). Une telle analyse pourrait faire l'objet de futurs travaux de recherche, menés à plus long terme et sur la base d'un échantillonnage d'un plus grand nombre de sites.

#### C. Une meilleure représentation des interactions complexes entre communautés

Ces travaux de thèse ont révélé des relations complexes entre les communautés de petits mammifères et les communautés bactériennes commensales et pathogènes. Notre approche empirique ne permet pas de démêler les causes et les effets à l'origine des patrons observés. L'anthropisation peut entraîner une cascade d'effets qui se propagent à travers les différents niveaux d'organisation biologique, de la modification des pathogènes aux micro-organismes, à la santé et aux traits des hôtes, et enfin aux communautés d'hôtes (Schmid et al., 2022). Cette cascade peut impliquer à la fois des effets ascendants (bottom-up, Li et al., 2020) et descendants (**Fig.2A**, top-down, Halliday et al., 2021; Schwensow et al., 2022) de l'anthropisation, contribuant ainsi à la complexité des interactions au sein des écosystèmes perturbés (**Fig.2B**). Ces deux voies de cause à effet pourraient être reliées simultanément par des boucles de rétroaction.

L'anthropisation peut affecter la circulation des pathogènes, qui à leur tour modifient les interactions entre les micro-organismes, les traits et la santé des hôtes. Cette circularité des interactions ne permet souvent pas de déterminer si la dysbiose observée favorise l'infection par des pathogènes ou si ce sont ces infections qui altèrent les interactions entre les micro-organismes, entraînant ainsi des changements dans la composition du microbiote. Ces boucles de rétroactions complexes peuvent conduire à des vortex d'extinction (Forester et al., 2022), un phénomène que l'on a observé dans des cas tels que le syndrome du nez blanc chez les chauves-souris. A l'avenir, la compréhension de ces mécanismes complexes sera essentielle pour élucider les conséquences de l'anthropisation sur la santé des hôtes et des écosystèmes (Hoyt et al., 2018).



**Fig. 2A.** L'impact en cascade de l'environnement sur les communautés d'hôtes, les traits, le microbiote et les pathogènes. **B.** Un nouveau paradigme multipartite intégrant le microbiote, les traits et la santé.(Figure inspirée de Schmid et al., 2022)

### III. Importance des traits fonctionnels des petits mammifères dans les interactions entre communautés de différents niveaux biologiques

Il a récemment été proposé que les traits fonctionnels des espèces hôtes (i.e. les caractéristiques individuelles influençant la valeur sélective) puissent être au cœur des patrons de circulation/distribution des pathogènes, tel qu'observé sur différents niveaux d'organisation biologique (**Fig.3**) (Huang et al., 2023). Ces traits fonctionnels englobent les caractéristiques écologiques, physiologiques, immunitaires et microbiennes. Ils résultent de l'interaction entre la génétique de l'hôte et son environnement. La prise en compte de ces traits dans les recherches en écologie de la santé devrait permettre de mieux comprendre les relations biodiversité/zoonoses. En effet, d'une part, ces traits déterminent la compétence des espèces vis-à-vis des pathogènes, le risque d'exposition et la sensibilité des individus, qui sont des composantes majeures de la transmission des pathogènes en populations naturelles. D'autre part, les pressions environnementales, et en particulier les perturbations telles que celles engendrées par l'anthropisation, altèrent la composition des communautés d'hôtes, en favorisant certains traits fonctionnels potentiellement associés à une plus forte compétence vis-à-vis des pathogènes.

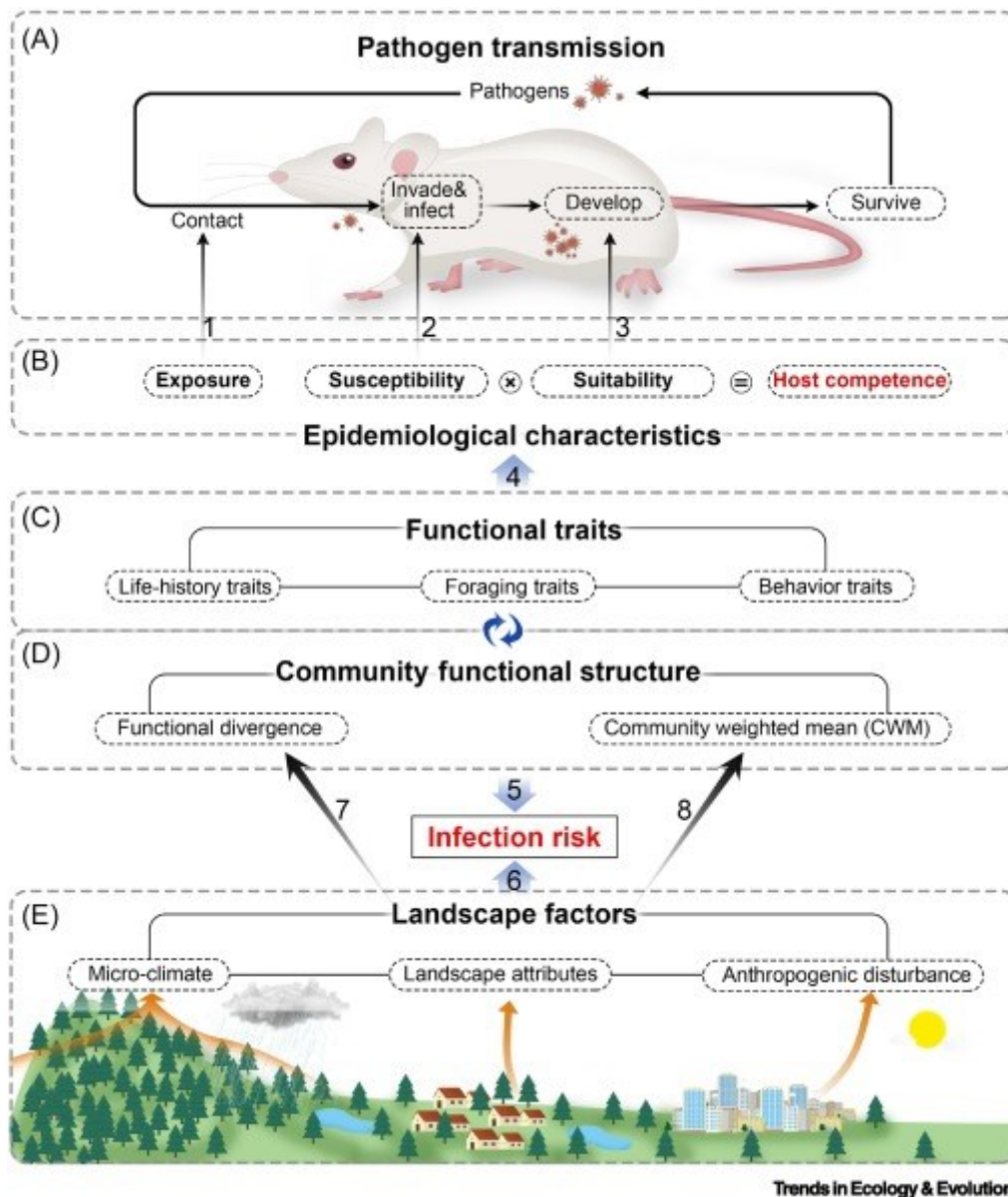


Fig.3 Les traits fonctionnels comme lien pour la transmission des agents pathogènes à différentes échelles (Huang et al., 2023).

A. La compétence est une résultante des traits fonctionnels des espèces de petits mammifères

Les espèces varient pour leur compétence aux pathogènes, autrement dit pour leur sensibilité et leur capacité à permettre la répliation et la transmission de ces derniers (Huang et al., 2016). Cette compétence résulte de facteurs génétiques, physiologiques, phénotypiques de chaque espèce du système hôtes-pathogènes étudié (Han et al., 2015; Olival et al., 2017a). Elle est donc en partie déterminée par les traits fonctionnels des espèces.

De plus, les traits fonctionnels peuvent avoir un impact sur de nombreuses autres caractéristiques spécifiques qui pourraient influencer la transmission des pathogènes. Il s'agit par exemple des contacts intra- et inter-espèces hôtes liés aux comportements sociaux, ou de l'exposition aux pathogènes environnementaux qui peut être liée aux comportements d'exploration et de dispersion (**Fig.3**). Dans cette thèse, nous avons déterminé de façon approximative la compétence des espèces de petits mammifères via la détection d'une infection par un pathogène, et la capacité de réservoir de ces espèces via le nombre de pathogènes qu'une espèce pourrait potentiellement transmettre. Nous n'avons pas mesuré la compétence réelle des espèces hôtes, puisque nous n'avons pas de données des charges bactériennes pathogènes intra-hôte, ni de la capacité de transmission des pathogènes à un autre individu. L'acquisition de telles connaissances est délicate en populations naturelles, et nécessite des approches expérimentales.

Il est également admis qu'il existe généralement une relation entre les traits écologiques et fonctionnels des espèces, notamment via des compromis évolutifs ou physiologiques. La théorie des traits d'histoire de vie prédit notamment qu'une compétence plus grande devrait être associée à des traits de vie correspondant à des cycles de vie rapides, où les traits de croissance et de reproduction sont favorisés aux dépens de l'immunité. Ce processus éco-évolutif expliquerait pourquoi les espèces d'hôtes les plus compétentes présentent généralement une plus grande abondance et une meilleure résistance aux perturbations (Rohr et al., 2020; Plourde et al., 2017).

Cependant, nous n'avons pas observé cette tendance dans ce travail de thèse (**Chapitre 2**). En effet, les espèces les plus compétentes vis-à-vis d'un pathogène ne se sont pas révélées être les plus abondantes dans les environnements les plus fortement perturbés. En revanche, nous avons découvert que les espèces adaptatrices, qui sont très abondantes dans tous les milieux échantillonnés, présentent une plus grande capacité de réservoir, c'est-à-dire qu'elles hébergent un plus grand nombre de pathogènes que les autres types d'espèces. (**Chapitre 1**).

Une explication plausible pour expliquer ce patron contraire aux prédictions théoriques est que toutes les espèces hôtes examinées dans notre étude présentent à la fois une grande abondance et une grande compétence. En effet, nos observations se concentrent principalement sur des espèces communes, y compris des espèces adaptées aux environnements urbains et des espèces commensales. Cependant, il est important de noter



que les espèces indigènes et rares, à l'exception de *Glis glis* et *Crocidura leucodon*, ne sont pas suffisamment représentées dans notre étude pour qu'une bonne évaluation de leur abondance et de leur charge pathogène soit réalisée, laissant ainsi une lacune dans notre compréhension du système. Le problème réside dans notre méconnaissance des espèces éteintes, ainsi que dans le fait que les espèces rares sont insuffisamment échantillonnées (Coomber et al., 2021).

De plus, les forêts les moins perturbées échantillonnées ici subissent malgré tout diverses altérations dues aux activités anthropiques, favorisant potentiellement la présence des espèces les plus abondantes, les plus résistantes et les plus compétentes (Mendoza et al., 2019b).

Enfin, le microbiote commensal (en particulier intestinal) des espèces hôtes pourrait être considéré comme un trait fonctionnel exerçant une forte influence sur la capacité de réservoir et la compétence des hôtes. La redondance fonctionnelle d'un microbiote pourrait favoriser l'accumulation de taxons phylogénétiquement proches, tandis qu'elle pourrait entraîner une exclusion compétitive lorsque les taxons sont phylogénétiquement éloignés, de sorte à empêcher l'entrée de nouveaux taxons (Pickard et al., 2017). Nos résultats montrent que les espèces adaptatrices tendent à avoir des microbiotes intestinaux qui rassemblent des taxons plus proches sur le plan phylogénétique, ce qui peut expliquer leur capacité à servir de réservoir à de nombreux taxons rares, dont certains peuvent être pathogènes pour l'humain. Cependant, une grande redondance fonctionnelle peut être coûteuse pour l'hôte en termes d'énergie, pouvant affecter des domaines tels que l'immunité (Larsen & Claassen, 2018). Cette allocation d'énergie pourrait favoriser l'accumulation de pathogènes. En conséquence, la diminution des taxons microbiens peut créer un environnement propice à la colonisation par des pathogènes opportunistes, souvent des taxons d'origine humaine (Dillard et al., 2022). En ce qui concerne les espèces citadines, leur microbiote est davantage soumis à des pressions stochastiques, ce qui peut permettre l'introduction aléatoire de nouveaux taxons, pouvant avoir des effets bénéfiques ou néfastes pour l'hôte. Les pressions stochastiques peuvent également entraîner des dysbioses (Zaneveld et al., 2017), perturbant la composition taxonomique et la perte de fonctions essentielles, notamment celles liées à l'immunité. De plus, l'extinction d'espèces peut laisser des niches vacantes, favorisant l'implantation de pathogènes opportunistes (Pickard et al., 2017). Ces interactions environnement / microbiote affectent donc la compétence et la sensibilité des espèces hôtes aux pathogènes.

B. L'anthropisation augmente le danger zoonotique via la modification de la structure fonctionnelle des communautés d'hôtes

Très peu d'études ont évalué la relation entre l'anthropisation, les traits fonctionnels et la circulation des pathogènes dans la faune sauvage. Cette lacune constitue un domaine de recherche prometteur (Huang et al., 2023), qui nécessite la prise en considération de la relation tripartite entre l'environnement, la structure des communautés d'hôtes et les pathogènes (Fig.4).

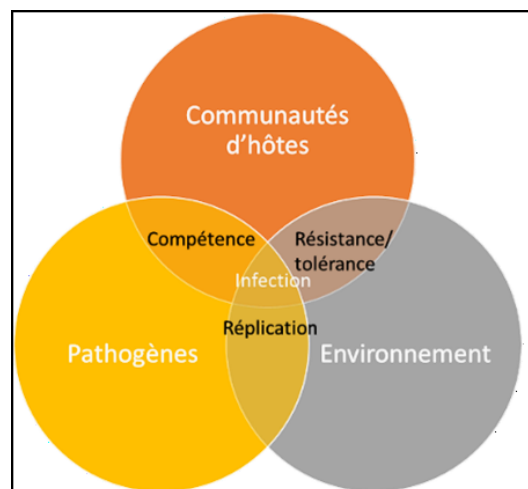


Fig.4. Illustration de la relation tripartite entre l'environnement, la communauté d'hôtes et les pathogènes. Inspiré de Halliday et al. (2021)

L'impact de l'anthropisation se manifeste au travers de pressions de sélection environnementale qui façonnent la diversité et la structure des communautés à différents niveaux biologiques. Pour les communautés de mammifères, les espèces résistantes ou résilientes à ces pressions, capables de s'adapter aux milieux urbains, montre des traits fonctionnels particuliers. L'anthropisation favorise donc l'émergence d'espèces dotées de stratégies adaptatives spécifiques (Plourde et al., 2017). Comme vu précédemment, ces traits fonctionnels sont associés à d'autres caractéristiques phénotypiques en relation avec les pathogènes, notamment la compétence, la sensibilité et l'exposition à ces derniers. En conséquence, cette structure fonctionnelle des communautés d'hôtes participe fortement aux patrons de circulation des pathogènes décrits à l'échelle des communautés.

Les résultats présentés dans le **Chapitre 1** mettent en évidence les traits favorisés par l'anthropisation, qui peuvent expliquer la répartition des espèces de petits mammifères le long du gradient d'anthropisation. Nous avons observé que les espèces citadines présentent des caractéristiques telles qu'une reproduction rapide avec une taille de portée importante, une taille plus élevée ou encore une grande diversité du régime alimentaire. Ces traits correspondent aux stratégies écologiques de type « R », permettant de coloniser rapidement les nouveaux environnements. Ces résultats étaient en accord avec les résultats d'une méta-analyse sur les traits des mammifères urbains (Santini et al., 2019). Cependant, notre étude s'est appuyée sur la base de données mondiale, Pantheria (Jones et al., 2009). Or, ces traits fonctionnels ou écologiques peuvent présenter des variations significatives spatiales et temporelles, en réponse à différents facteurs biotiques et abiotiques. Par conséquent, il serait intéressant de réaliser nos analyses en utilisant des mesures de traits fonctionnels et écologiques propres à chaque population échantillonnée.

Une autre hypothèse théorique suggère qu'une forte plasticité comportementale serait un facteur favorisant l'adaptation urbaine (Mazza et al., 2020). Les espèces citadines présentent souvent des comportements sociaux complexes, tels que des systèmes hiérarchiques et des systèmes de communication chez les rats, ainsi que des comportements de protection de leur portée face aux dangers chez les *Crocidures* par rapport aux *Sorex* (**Chapitre. 1**). Plusieurs méta-analyses ont mis en évidence qu'une plasticité phénotypique accrue pourrait faciliter l'établissement des espèces dans un nouvel environnement (Caspi et al., 2022; Davidson et al., 2011; Hendry et al., 2008). Dans ce contexte, le microbiote peut être identifié comme un trait fonctionnel de l'espèce et comme moteur de la plasticité (Alberdi et al., 2016; Moeller & Sanders, 2020) et pourrait ainsi être à l'origine de l'adaptation des espèces (**Fig.5**).

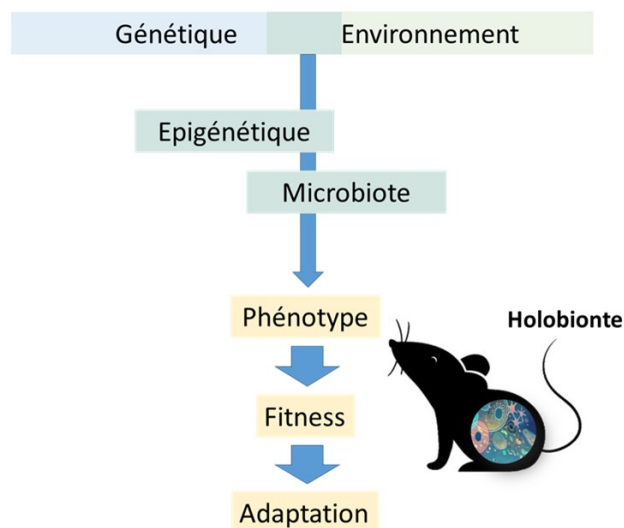


Fig. 5. L'expression des gènes est influencée par l'environnement, ce qui signifie que chaque trait fonctionnel résulte de l'interaction entre l'environnement et la génétique. Dans de nombreux cas, l'épigénétique joue un rôle clé dans cette régulation de l'expression génétique chez l'hôte. Cependant, il est maintenant reconnu que le microbiote, qui est également influencé par la génétique de l'hôte (phylosymbiose) ainsi que par l'environnement, peut jouer un rôle crucial. En étant flexible, il permet à l'hôte de s'adapter plus rapidement en acquérant de nouvelles fonctions essentielles.

Les résultats de cette thèse illustrent l'impact de l'anthropisation sur la structure fonctionnelle des communautés d'hôtes, du point de vue de la diversité, composition et des fonctions du microbiote intestinal. En particulier, nous avons démontré que les espèces citadines avaient un microbiote intestinal associé à une grande diversité de fonctions. Certaines fonctions étaient surexprimées chez tous les individus de ces espèces citadines étudiées, ce qui pourrait indiquer qu'elles soient favorisées en réponse aux pressions anthropiques liées au milieu urbain (**Chapitre 3**).

Cette thèse a mis en exergue l'influence de l'anthropisation sur la structure fonctionnelle des communautés à différents niveaux d'organisation biologique ; les petits mammifères et les pathogènes d'une part (**Chapitre 2**), les petits mammifères et le microbiote intestinal d'autre part (**Chapitre 3**). Il est désormais nécessaire, comme ceci a été fait à l'échelle d'une espèce hôte (**Chapitre 4**), d'analyser conjointement les liens complexes entre ces trois communautés. Ceci permettra d'évaluer si l'anthropisation affecte le danger zoonotique via la modification de la structure fonctionnelle des communautés d'hôtes (top-down) et/ou des communautés microbiennes (bottom-up)

### C. L'urbanisation est-elle associée à une moins bonne santé des hôtes ?

Une question qui reste en suspens concerne la santé des hôtes en milieu urbain. Ces environnements peuvent représenter un fardeau pour la santé des hôtes (**Fig.6**)(Werner & Nunn, 2020a). Ils sont associés à divers stress liés aux activités humaines, à diverses sources de pollution... De plus, l'alimentation humaine peut être plus calorique et moins saine.

Les traits fonctionnels favorisés dans ces milieux, les conséquences sur la compétence et la circulation des pathogènes dans la faune sauvage, permettent-ils de préserver la santé des hôtes, ou les petits mammifères restent-ils plus malades en ville que dans les forêts moins anthropisées ?

Nous avons observé un nombre accru de signes cliniques en milieu urbain tels que des plaies cutanées, des infections et des nécroses, ainsi qu'une augmentation du nombre de macroparasites tels que les échinocoques et les ténias. Ces travaux étaient en accord avec les travaux de Murray et al. (2019), qui ont mis en évidence une relation négative entre l'anthropisation et la santé des animaux sauvages. Cependant nos résultats mettent également en exergue une plus grande survie des espèces de petits mammifères adultes en environnement urbain et une réduction du nombre d'ectoparasites (**Chapitre 1**).

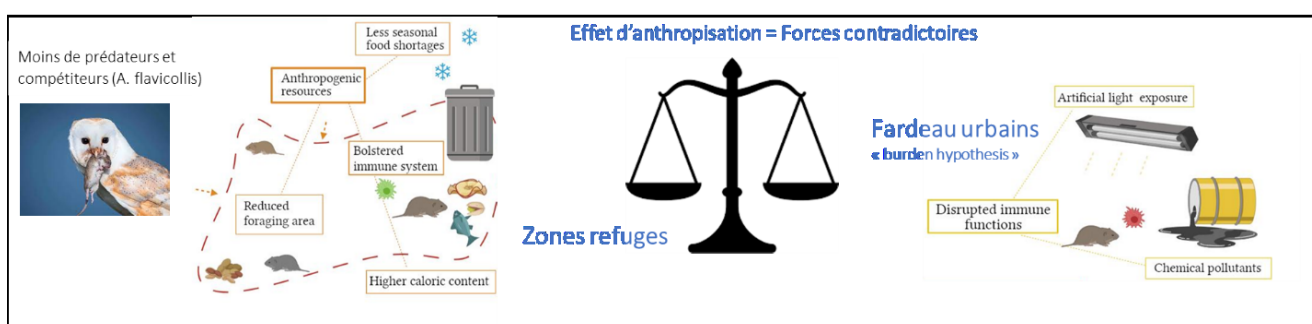


Fig. 6 illustration des forces contradictoires engendrées par l'anthropisation sur la santé et la condition physique des individus

De façon similaire, nous avons obtenu des résultats divergents au niveau microbien. La variance inter-individuelle de la composition du microbiote intestinal était très forte en milieu urbain. Cela pouvait résulter soit de différences marquées dans leur alimentation, soit (l'hypothèse la plus probable) d'une dysbiose plus prononcée. Les effets stochastiques étaient plus marqués sur le microbiote intestinal en ville, ce qui peut avoir un impact direct sur la santé et la condition physique de l'hôte. Cependant, nous avons également constaté une plus grande diversité

fonctionnelle et une surexpression de certaines fonctions, ce qui suggère une sélection de fonctions essentielles pour une meilleure santé de l'hôte (**Chapitre 3**).

De manière similaire aux processus observés au niveau des espèces, il est possible que les individus plus vulnérables aux pressions anthropiques soient également plus sensibles aux pathogènes. Cela pourrait être attribué aux effets de dysbiose ou aux interactions microbiennes. Cependant, nos recherches menées sur le campagnol roussâtre ont révélé qu'il n'y avait pas de corrélation entre la diversité ou la composition des communautés bactériennes pathogéniques et du microbiote intestinal. La perspective d'utilisation des caractéristiques du microbiote commensal comme indicateur de santé pour la faune sauvage reste donc à approfondir.

#### IV. Des changements d'échelle en perspective

##### A. Nécessité de prendre en compte différentes échelles biologiques pour mieux évaluer les relations entre biodiversité et zoonoses

Nous avons étudié les relations entre la biodiversité et le danger zoonotique en considérant différents niveaux d'organisation biologique, couvrant principalement les individus, les populations et les communautés d'hôtes, et dans une moindre mesure les niveaux de l'environnement et des organes. Il pourrait être bénéfique d'intégrer l'ensemble des échelles d'organisation de la biodiversité pour mieux appréhender la complexité des relations entre biodiversité et zoonoses, notamment l'échelle de l'écosystème et les échelles moléculaires et cellulaires (**Fig.7**).

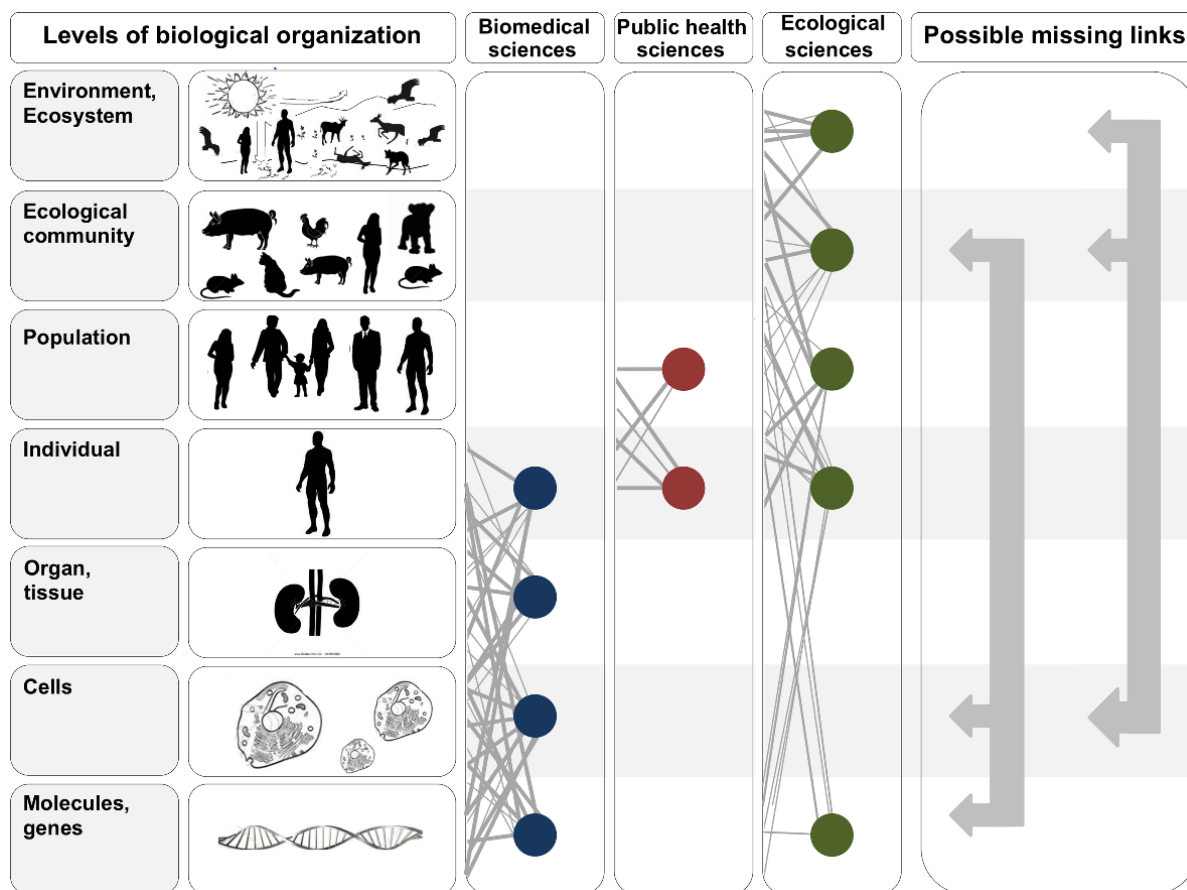


Fig.7. Issue de Ezenwa et al. (2015). Dans les deux panneaux les plus à gauche, nous décrivons la hiérarchie de l'organisation biologique, depuis les molécules et les gènes jusqu'aux écosystèmes. Le panneau de droite montre des exemples de lacunes dans les connaissances qui peuvent émerger de la ségrégation « typique » des activités de recherche entre les trois domaines.

Dans cette thèse, les communautés écologiques étudiées incluaient les petits mammifères. Il aurait été pertinent d'élargir notre perspective à l'étude de **communautés plus vastes**. Cette approche aurait pris en compte non seulement les petits mammifères mais aussi les vecteurs, les prédateurs, ainsi que d'autres espèces partageant le même habitat, tels que les humains, les animaux domestiques, les oiseaux ou encore d'autres espèces clés dans l'écosystème telles que les ongulés (Ezenwa et al., 2015; Johnson et al., 2015). La considération de communautés d'hôtes plus larges aurait permis de mieux comprendre comment la diversité de la faune sauvage peut réguler la transmission des pathogènes et favoriser l'effet de dilution (Keasing et al., 2010).

Nous avons inclus l'échelle des **populations** en étudiant les différences géographiques intraspécifiques de différentes caractéristiques des petits mammifères. Nous n'avons pas abordé l'échelle individuelle, qui permettrait de mieux décrire les phénomènes de transmission

de pathogènes au sein et entre populations ou espèces. Par exemple, comprendre les mouvements des individus et leurs contacts intra- et interspécifiques peut être essentiel pour évaluer la transmission des pathogènes (Sih et al., 2018). Or ces mouvements et contacts peuvent varier entre individus en fonction du comportement social, du statut hiérarchique au sein du groupe social, ou du groupe fonctionnel (Silk & Fefferman, 2021).

Un niveau d'organisation non inclus dans cette thèse, et également peu pris en compte en écologie est **le niveau intra-hôte, des cellules ou des organes**. Or, prendre en compte les interactions au niveau cellulaire peut fournir des informations majeures sur les interactions entre les micro-organismes, les cellules immunitaires (anticorps) et les métabolites, de l'hôte, des microbes commensaux ou des pathogènes (Ezenwa et al., 2015). Parallèlement, il aurait été intéressant de prendre en compte les différentes communautés microbiennes présentes dans chaque organe d'un hôte pour étudier leurs interactions et comprendre le fonctionnement de ces méta-communautés intra-hôtes (Miller et al., 2018).

Enfin **l'échelle moléculaire** serait tout à fait pertinente, qu'il s'agisse des hôtes ou des pathogènes. Le polymorphisme nucléotidique ou les variations d'expression génique peuvent influencer aussi bien la compétence et la sensibilité des hôtes que la virulence des pathogènes et les interactions hôtes-pathogènes, voire pathogènes-pathogènes. Ainsi, les études de génomique de l'adaptation menées sur des hôtes réservoirs en zones endémiques et non endémiques pour un pathogène ont permis d'identifier des voies immunitaires impliquées dans les variations de résistance/tolérance (voir par ex Dubois et al., 2018). Les recherches approfondies sur les sérogroupes/sérovars des leptospires ont révélé des relations spécifiques avec les hôtes (voir **Chapitre 1**, Garcia-Lopez en préparation). Les différences génétiques observées entre les souches de l'Orthohantavirus PUUV circulant en France pourraient expliquer des variations de transmission ou de virulence de ce virus (voir par ex. Madrières et al., 2020).

Dans les années à venir, il sera crucial d'intégrer l'ensemble de ces niveaux d'organisation biologique en écologie de la santé. Ceci permettra de mieux comprendre les relations complexes entre microbiotes commensaux et communautés de pathogènes au sein des hôtes. A terme, cette connaissance sera cruciale pour évaluer comment et pourquoi ces interactions façonnent les patrons biodiversité / prévalence des pathogènes observés dans la faune sauvage.



## B. Nécessité d'évaluer les relations entre biodiversité et zoonoses à différentes échelles spatio-temporelles

Il serait judicieux d'approfondir notre compréhension de la manière dont les échelles spatiales et temporelles influencent la relation entre la perte de biodiversité et la circulation des agents pathogènes.

Notre étude s'est concentrée sur une période de suivi courte de 2.5 ans, et un échantillonnage biannuel, ce qui peut limiter notre capacité à comprendre les relations entre la biodiversité et la circulation des agents pathogènes. En effet, il convient de noter que les communautés de petits mammifères sont soumises à différents cycles pluriannuels, tels que la fructification de certains arbres dont les fruits sont des ressources importantes pour ces animaux (ex des fluctuations de glandées chez les chênes), sur une période de 3 à 5 ans (Ostfeld et al., 2018). Ces phénomènes écologiques ont un impact sur le cycle d'abondance des espèces de petits mammifères. Notre étude ne permet pas de capturer cette variabilité pluriannuelle. Un suivi à long terme, recoupant plusieurs cycles, pourrait offrir la possibilité de mieux comprendre l'impact de ces variations temporelles d'abondance de certaines espèces hôtes sur la composition des communautés de petits mammifères et la circulation des pathogènes. Cela permettrait également d'évaluer l'impact des événements climatiques exceptionnels ou encore du réchauffement climatique sur ces relations biodiversité/zoonoses.

Concernant l'échelle spatiale, notre recherche était basée sur une échelle régionale en France, ce qui est limitant pour plusieurs raisons. D'une part, cette échelle peut être considérée comme trop grande, car les différentes communautés d'hôtes échantillonnées évoluent dans des conditions abiotiques contrastées, ce qui peut entraîner des effets confondants lors de nos analyses des relations biodiversité/zoonoses. Réduire l'étude à une échelle plus fine, d'une métropole par exemple, permettrait de limiter ce problème de fortes variations des conditions abiotiques entre sites d'étude. D'autre part, une étude réalisée à une échelle trop fine peut donner des résultats trop spécifiques et n'avoir qu'une portée générale limitée. Considérer une échelle continentale, voire mondiale, ou à l'échelle de la distribution des espèces de petits mammifères pourrait être très enrichissant de ce point de vue. Le projet **BioRodDis**, avait une portée spatiale plus étendue, couvrant une partie de l'Europe centrale et du Nord. Ce couplage d'études à différentes échelles spatiales contribue à une meilleure compréhension des

processus spécifiques et généraux à l'œuvre dans l'établissement des relations biodiversité/zoonoses.

## V. Mieux répondre aux recommandations dictées par le concept « One health »

Pour rappel, le concept "One Health" ou "une seule santé" vise à intégrer la santé des êtres humains, des animaux et des écosystèmes, reconnaissant ainsi l'interdépendance étroite entre ces trois domaines pour assurer la santé globale de la planète (OHHLEP). Cependant, nous avons encore une connaissance limitée de la santé de la faune sauvage et plus généralement de la circulation des pathogènes, en particulier dans des écosystèmes perturbés. Dans l'introduction, nous avons souligné l'importance cruciale de mieux comprendre les mécanismes de transmission inter-espèces (Lefrançois et al., 2023), notamment pour anticiper les risques et prévenir de futures pandémies mais aussi afin d'adopter des approches « gagnantes-gagnantes » pour la santé et pour l'environnement (Cunningham et al., 2017b). Pour cela, il était recommandé de mettre en place un système d'alerte local efficace et précoce, en renforçant la surveillance des agents pathogènes chez divers hôtes de la faune sauvage dans différents environnements (Carroll et al., 2018).

Ce projet est en adéquation avec ces recommandations, car il a permis, premièrement, de décrire et surveiller la circulation de divers agents pathogènes chez plusieurs espèces de rongeurs dans une région de France. Deuxièmement, il a contribué à une meilleure compréhension des mécanismes de l'effet dilution à travers des études empiriques et théoriques, ouvrant ainsi la voie à l'adoption de stratégies 'gagnantes-gagnantes' pour la biodiversité et la santé publique. Troisièmement, il a permis d'approfondir les connaissances sur la santé de la faune sauvage, en mettant en exergue l'importance du microbiote intestinal dans les interactions hôtes-pathogènes et pathogènes-pathogènes. Enfin, ces résultats ont été transférés vers les gestionnaires de sites et des instances de santé publique, afin d'améliorer les stratégies de prévention des utilisateurs face aux dangers zoonotiques recensés. Cependant, nous préconisons plusieurs pistes pour améliorer les futures études qui porteraient sur des questions de recherche similaires.

### A. Améliorer la surveillance du danger zoonotique selon les recommandations liées au concept « One health »

Une première série de recommandations concerne l'amélioration de la surveillance de la circulation des agents pathogènes. Nous préconisons une meilleure prise en compte des facteurs temporels et environnementaux, qui influencent la dynamique des hôtes et des pathogènes (O'Brien & Xagoraki, 2019). Comme dit précédemment, notre suivi temporel n'a

pas couvert le cycle pluriannuel d'abondance des petits mammifères. La mise en place de suivis de surveillance à long terme est indispensable pour acquérir des données sur plusieurs cycles, ce qui permettrait de comprendre les processus éco-épidémiologiques qui façonnent la circulation des pathogènes, dans la faune sauvage, mais également les pics de transmission animaux/humains (Giraudoux et al., 2021, revue scientifique Bourgogne-Franche-Comté Nature 34). De telles séries démographiques longues de petits mammifères, supérieures à la durée d'un cycle, restent très rares et principalement menées en Scandinavie ou en Grande-Bretagne.

De plus, notre design spatial d'échantillonnage n'a inclus qu'un faible nombre de répliques par catégorie d'anthropisation, et nos études de paysages menées *a posteriori* ont révélé d'importantes variations abiotiques entre répliques. De façon extrême, les deux sites boisés en milieu urbain se sont ainsi révélés correspondre à deux catégories distinctes d'anthropisation : parc urbain et péri-urbain, avec des conséquences éco-épidémiologiques fortes. Pour éviter ces problèmes, il serait judicieux, dans la mesure du possible (contraintes d'accès, d'autorisation d'échantillonnage) d'évaluer en amont de l'échantillonnage la variabilité des facteurs abiotiques entre sites choisis *a priori*, et de rectifier ces choix en cas de disparités spatiales trop fortes. Ceci permettrait de minimiser les biais environnementaux potentiels par rapport à notre question biologique (**Tableau 1**). En parallèle, l'échantillonnage de trois répliques par catégorie permettrait de limiter le risque de problèmes statistiques ultérieurs, si un réplique ne peut plus être suivi au cours de l'étude. C'est particulièrement important pour les suivis à long terme, car les événements imprévus qui modifient les possibilités d'échantillonnage (incendie, coupes, défaut d'autorisation d'échantillonnage) deviennent alors plus probables.

**Tableau 1.** bilan des techniques à prendre en compte pour améliorer la surveillance des zoonoses.

Pour une meilleure surveillance = approche holistique			
Meilleures analyses spatio-temporelles	Meilleur suivi de la faune sauvage	Meilleure détection des pathogènes	Détection des maladies animales et humaines
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Études des facteurs environnementaux</li> <li>- Études temporelles, saisonnières</li> <li>- Études spatiales préliminaires des sites avant échantillonnage</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Études des communautés d'hôtes multi-échelles (diversité, espèces, individus)</li> <li>- Standardisation des méthodes</li> <li>- Collaboration</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Meilleures connaissances des pathogènes présents</li> <li>- Meilleures détection des espèces/souches de pathogènes.</li> <li>- Standardisation des méthodes</li> <li>- Collaboration</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Meilleure détection</li> <li>- Meilleure communication intra-disciplines</li> <li>- Collaboration</li> <li>- Meilleure compréhension des sciences humaines</li> </ul>

Deuxièmement, nous avons discuté précédemment de l'importance des suivis des communautés d'hôtes les plus exhaustifs possibles, idéalement à plusieurs échelles (de la diversité générale à l'échelle de l'espèce et au niveau des individus). Cette démarche exige une mobilisation considérable en terme de personnel et de financement (Carroll et al., 2018). Nous soulignons l'importance de la mise en place de collaborations pluridisciplinaires (sciences de l'écologie, de la santé vétérinaire...), voire transdisciplinaires (ex de l'implication possible des fédérations de chasse, des organismes travaillant sur la biodiversité, des associations naturalistes, ...), et la co-construction du projet entre les différents partenaires, pour optimiser l'échantillonnage et garantir des résultats comparables entre différents sites d'études (**Tableau 1**).

Dans notre étude, nous avons été confrontés à plusieurs limites dans l'acquisition des données sur les hôtes, bien qu'elles aient été fructueuses avec 1734 individus capturés appartenant à 18 espèces. En particulier, les biais d'échantillonnage sont liés à la capturabilité des espèces, aux pièges et appâts utilisés. Il faudrait diversifier les approches permettant d'évaluer la diversité des petits mammifères et plus généralement de la faune sauvage (voir **chapitre 1**). Une alternative à l'échantillonnage exhaustif de la faune sauvage consiste à concentrer les efforts d'échantillonnage sur les espèces connues comme étant des réservoirs majeurs de pathogènes, et dans les régions les plus propices à la circulation de ces derniers (Carroll et al., 2018). Les données épidémiologiques acquises sur ces espèces peuvent être mises en relation

avec les facteurs environnementaux et permettre l'établissement de cartes de risque potentiel (Allen et al., 2017b; Dharmarajan et al., 2022; Olival et al., 2017a). Cependant, dans le cadre de ma thèse, nous avons constaté que certains pathogènes zoonotiques étaient également détectés dans les espèces de petits mammifères qui n'étaient pas nécessairement les plus abondantes ni les réservoirs attendus. Il y aurait donc un risque de biais des prédictions si les études futures se concentraient uniquement sur la connaissance passée de la distribution des pathogènes, celle-ci n'étant que trop parcellaire, et déjà biaisée par des recherches concentrées sur certaines espèces (Albery et al., 2022). Un compromis est donc à trouver entre des échantillonnages renforcés dans les zones et les hôtes identifiés comme présentant un risque plus élevé, et des échantillonnages sans *a priori* dans les espèces et zones géographiques moins connues (Carroll et al., 2018).

Une limite de cette étude est également l'absence de données chez les animaux domestiques et les humains, ce qui ne permet pas d'analyser le risque zoonotique, ni de comprendre les facteurs qui favorisent la transmission des animaux vers les humains. Nous avons cependant pu mettre en relation les nombreux cas de néphropathie épidémique détectés dans la population humaine du Jura en 2021 avec l'éco-épidémiologie de l'Orthohantavirus PUUV dans les populations de campagnols roussâtres de la même région (Castel et al., 2023). Un tel lien n'a pas pu être fait pour les autres pathogènes zoonotiques que nous avons détectés chez les petits mammifères. Par exemple, la détection de la bactérie *Francisella tularensis* dans les petits mammifères en 2021 n'a pas trouvé écho dans les données humaines du Centre national de référence. Une recommandation possible est d'améliorer la surveillance des zoonoses dans les populations humaines (Shanbehzadeh et al., 2022), et d'améliorer les transferts de connaissances entre l'écologie de la santé et la médecine. Nous ignorons s'il y a eu d'autres cas de pathogènes zoonotiques détectés dans les sites que nous avons suivis, mais nous émettons l'hypothèse que des lacunes dans la détection des maladies chez les humains pourraient être dues à la méconnaissance des agents zoonotiques issus de la faune sauvage dans le milieu médical, et aux limites de la collaboration entre écologues et médecins (Cunningham et al., 2017b; O'Brien & Xagorarakis, 2019).

Troisièmement, il est impératif d'accroître les efforts de détection des pathogènes dans la faune sauvage. La surveillance dans la faune sauvage présente souvent des biais en faveur des pathogènes déjà identifiés, comme l'ont souligné Hattendorf et al. (2017). Or il existe encore

un grand nombre de pathogènes inconnus, dont environ 1,67 million de virus, dont beaucoup pourraient avoir un impact sur les humains (environ 631 000 à 827 000 virus pourraient potentiellement affecter les humains, Anthony et al., 2013; Carroll et al., 2018; Olival et al., 2017). Une estimation de Carroll et al. (2018) indique que si nous persistons à utiliser les approches de détection actuelles, notre surveillance ne sera en mesure de détecter que 0,1 % des virus pouvant potentiellement infecter les êtres humains. L'estimation du nombre de bactéries, de champignons et d'autres parasites potentiellement pathogènes pour les humains ou les animaux n'a jamais été évaluée, mais elle est sans aucun doute tout aussi importante (Han et al., 2015; Jones et al., 2008). Une problématique actuelle est que la recherche exhaustive de tous les pathogènes à potentiel zoonotique serait extrêmement coûteuse, avec une estimation de 7 milliards de dollars pour les virus uniquement. C'est pourquoi la biologie prédictive appliquée au risque zoonotique, qui associe écologie et intelligence artificielle, est un front de science en pleine effervescence dont l'objectif est d'arriver à optimiser la surveillance des pathogènes dans la faune sauvage, pour prévenir les émergences (Becker et al., 2022; Pandit et al., 2022; Wardeh et al., 2020).

#### B. Reconsidérer les espèces de petits mammifères et adopter une approche gagnante-gagnante

La compréhension du **contexte socio-écologique** dans lequel de nouveaux pathogènes pourraient apparaître et être transmis aux populations humaines est crucial pour mieux comprendre le risque zoonotique. Une méthode d'enquête adaptée à cette fin est le modèle des Connaissances-Attitudes-Pratiques (CAP, Launiala, 2009), permettant de mettre l'accent sur les déficits cognitifs (Connaissances), les erreurs de jugement (Attitudes) ainsi que le manque de respect des comportements recommandés (Pratiques).

Alors que ma thèse s'est principalement concentrée sur le danger zoonotique et non l'exposition des pathogènes aux humains, le **projet BioRodDis** a également exploré une partie du contexte social dans lequel les échantillonnages étaient réalisés. Cela incluait l'analyse des pratiques des personnes qui fréquentent les forêts et les parcs urbains, ainsi que l'évaluation de la perception qu'ils avaient du risque zoonotique auquel ils étaient exposés lors de ces activités, notamment en ce qui concerne la transmission de pathogènes par les rongeurs.

La plupart des personnes avaient conscience du danger zoonotique que les rongeurs constituaient. Il est évident que dans la culture populaire, les rongeurs sont souvent stigmatisés

en tant qu'espèces nuisibles, ravageurs des cultures, porteurs de maladies, des êtres « pestiférés », souvent associés à des images négatives, tels que vivant dans les égouts ou se nourrissant des déchets alimentaires. En réponse à cette préoccupation, les êtres humains ont mis en œuvre de nombreuses stratégies pour se débarrasser de ces nuisibles, notamment par le biais de campagnes de dératisation. Ces campagnes ont souvent recours à des appâts contenant ce que l'on appelle communément de la "mort aux rats", principalement des anticoagulants qui entraînent leur décès (Witmer, 2019).

Dans ma thèse, nous avons évalué la capacité des petits mammifères, en particulier des rongeurs, à abriter des pathogènes à potentiel zoonotique et à occuper divers habitats. Nos résultats confirment que ces animaux ont un fort potentiel en tant que réservoirs d'agents zoonotiques et qu'ils sont capables de coloniser une grande variété d'environnements. **Ceci dit, faut-il pour autant considérer les espèces de petits mammifères comme des menaces en elles-mêmes ?** Nous pensons que cette évaluation pourrait constituer une erreur d'appréciation ! Il est impératif de revoir notre perception si nous souhaitons prévenir le risque zoonotique associé aux petits mammifères (Fig.8).



**Fig. 8** Les rats utilisés par ©Banksy dans son art servent de miroir à la société humaine. Ils symbolisent la résistance et la persévérance face à l'oppression, tout en reflétant les problèmes et les injustices de la société contemporaine, tels que les inégalités sociales, l'environnement, la faim dans le monde, les maladies, le pouvoir de l'argent, et d'autres préoccupations. Les rats de Banksy incarnent la dualité de l'âme humaine, rappelant que malgré les défis, il y a toujours de l'espoir et la possibilité de changement. Ils représentent la voix des marginaux et des opprimés, émergeant des sous-sols pour défier l'autorité et remettre en question l'hypocrisie de la société.

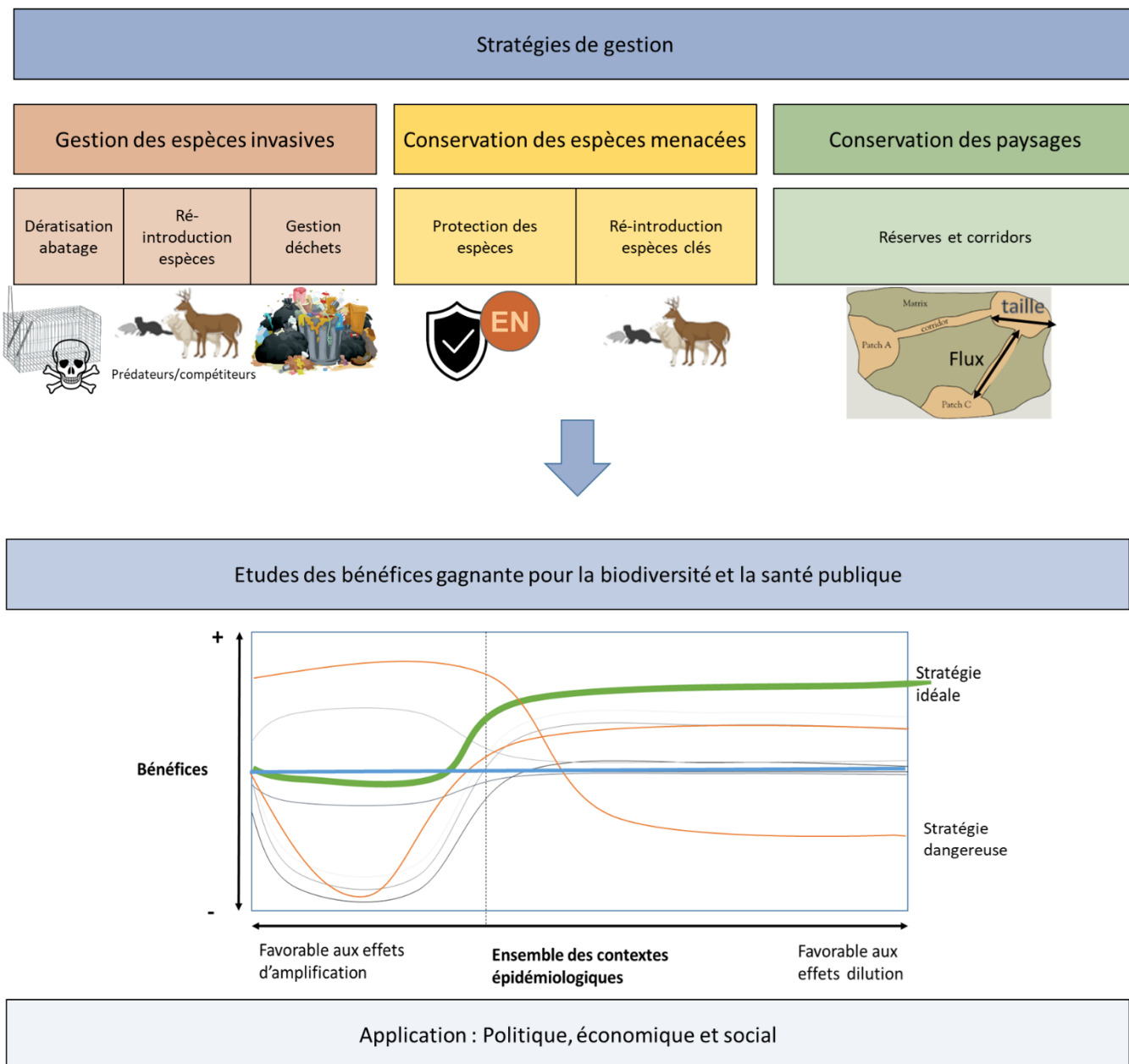


Premièrement, le problème des interactions entre la faune sauvage et les êtres humains découle principalement des activités humaines et de leurs impacts sur l'environnement (Schell et al., 2021, **Introduction**). Par exemple, lorsque les animaux sauvages se déplacent vers les zones urbaines, cela est souvent attribuable à la destruction de leurs habitats naturels, à l'expansion urbaine et à la perturbation de leurs écosystèmes d'origine. Un exemple frappant de cette dynamique est le rat brun, souvent dédaigné voire craint. Pourtant, ces rats reflètent notre civilisation, ayant développé la capacité de survivre à proximité de nous, en se réfugiant dans nos constructions et en se nourrissant des déchets que nous produisons. Leur population croît en parallèle de l'augmentation de la population mondiale, résultant de notre manière de gérer nos déchets et l'environnement. La quête inlassable de l'élimination des rats, alors qu'ils incarnent nos propres problèmes, soulève des questions sur nos habitudes de vie et notre influence constante sur l'environnement (**Fig.8**) (de Bondt et al., 2023).

Deuxièmement, nous avons souligné l'importance de la biodiversité des petits mammifères pour réguler le danger zoonotique. Cette fonction de régulation est atténuée lorsque les communautés de petits mammifères sont soumises aux perturbations, entraînant une perte de diversité et la prolifération de certaines espèces plus compétentes (effet dilution, **Chapitre 2**). Ainsi, il est crucial que la perception des petits mammifères et de leur diversité évoluent dans l'opinion publique en reconnaissant les services qu'ils offrent en tant que « régulateurs » des espèces abondantes et compétentes, ainsi que leurs effets «dilution» de la transmission des pathogènes (Keesing et al., 2006; 2010).

Troisièmement, les espèces de petits mammifères ne sont pas toutes envahissantes et nuisibles. Celles-ci présentent une diversité considérable et jouent un rôle écologique crucial, souvent sous-estimé, tout comme les menaces qui pèsent sur elles (C. Fischer et al., 2018; Guégan et al., 2020). De nombreuses espèces ayant pour habitats spécifiques les environnements forestiers sont vulnérables à l'anthropisation (Combe et al., 2019), et font face à un risque d'extinction accru (Coomber et al., 2021; Droghini et al., 2022; Harris, 2009). Nos recherches ont révélé l'impact significatif des activités humaines sur la diversité et la composition des communautés de petits mammifères en France, ce qui met en lumière la nécessité d'une meilleure considération des petits mammifères dans les environnements forestiers et urbains, notamment au près du plus grand public afin de mieux les protéger (Guégan et al., 2020).

Il devient impératif de réduire notre impact sur l'environnement et de trouver des solutions de gestion bénéfiques à la fois pour la biodiversité des petits mammifères et la santé publique. Dans cette optique, plusieurs stratégies de gestion sont envisageables (**Fig. 9**). Tout d'abord, pour contrôler la prolifération des espèces de petits mammifères envahissantes susceptibles de perturber les espèces indigènes, des méthodes de dératisation, de régulation des ressources alimentaires (comme la gestion des poubelles), l'introduction de prédateurs ou de compétiteurs peuvent être employées (**Fig. 9**). En outre, des approches de conservation directe peuvent être envisagées, notamment la protection des espèces en danger, l'introduction d'espèces clés jouant un rôle essentiel dans l'écosystème (et donc dans la préservation des espèces menacées), ainsi que la gestion des paysages, par exemple la création de réserves naturelles et de corridors pour réduire la fragmentation de l'habitat (**Fig. 9**, Arnal en révision, Hopkins et al., 2021). De nombreuses politiques publiques actuelles portent sur la végétalisation urbaine et la création d'espaces verts, visant à favoriser le bien-être humain, à lutter contre le réchauffement climatique et à préserver la biodiversité (Madureira & Monteiro, 2021; Semeraro et al., 2021). Toutefois, l'impact de ces méthodes sur la relation entre biodiversité et pathogènes demeure à préciser, avec la possibilité d'effets contre-productifs qui pourraient augmenter la circulation des pathogènes (Hopkins et al., 2022). Dans cette thèse, nos résultats issus de la modélisation épidémiologique indiquent que la dératisation, lorsqu'elle ne cible pas spécifiquement les espèces les plus compétentes pour un pathogène donné, peut avoir des impacts négatifs sur le danger zoonotique associé. L'évaluation des impacts des stratégies de gestion des 'nuisibles' ou de la biodiversité doit donc impérativement être faite en amont de leur mise en place, localement, par des approches empiriques et théoriques, et de façon holistique, c'est-à-dire tenant compte de la diversité des pathogènes et vecteurs présents dans la zone d'étude. Au-delà de ces aspects biologiques, il est important de noter que la mise en place de ces méthodes de gestion peut varier en fonction de facteurs socioculturels, tels que la perception du public, les croyances religieuses et culturelles dans le pays concerné (**Fig. 9**, Schell et al., 2021). De plus, ces méthodes doivent souvent composer avec des compromis économiques, une demande alimentaire croissante et l'urbanisation en expansion. Cette diversité souligne la complexité inhérente à la mise en œuvre de telles stratégies de gestion, nécessitant la participation active des communautés locales et la connaissance écologique des communautés animales (Singleton et al., 1999).



**Fig.9.** Schéma conceptuel illustrant diverses stratégies de gestion, telles que la gestion des espèces envahissantes, les méthodes de préservation des espèces en danger, ainsi que les approches de préservation des paysages. La mise en œuvre de ces méthodes exige une évaluation des risques pour la biodiversité et la santé publique. Chaque courbe représente une stratégie particulière. La courbe verte incarne l'idéal en offrant le plus grand bénéfice à la biodiversité et à la santé publique, adapté à une variété de contextes sans danger. Cependant, certaines stratégies (en rouge) peuvent être efficaces dans un contexte mais néfastes dans d'autres, posant des risques pour la biodiversité et la santé publique. L'objectif ultime serait d'identifier la meilleure stratégie "gagnant-gagnant" pour la protection de l'environnement et de la santé publique, sans ou avec des risques minimes potentiels. Enfin, leur application dépend du soutien des politiques, de l'économie et de la dimension sociale.

### C. Intégrer les connaissances sur les microbiotes dans le concept « One health »

Les recherches actuelles menées sur les microbiotes commensaux et les résultats de cette thèse mettent en exergue l'influence de ces derniers sur la compétence et la sensibilité des hôtes aux pathogènes, et l'influence des facteurs environnementaux, socioéconomiques et culturels sur leur diversité et leur composition. Ces recherches s'inscrivent donc également dans le concept "One Health" et soulignent l'importance de notre perception et de notre préoccupation du microbiote pour notre propre santé.

Premièrement, les micro-organismes ont été historiquement associés à une connotation négative, voire négligés. En conséquence, des méthodes médicales ont été employées pour éliminer les agents pathogènes, mais elles ont montré leur limite. L'adage "Les antibiotiques... ce n'est pas automatique" reflète cette réalité. Bien que les antibiotiques puissent efficacement éliminer les agents pathogènes, leur action non sélective peut entraîner la destruction des microbes symbiotiques, perturbant ainsi l'équilibre écologique. Malgré une prise de conscience croissante des dangers des antibiotiques chez l'humain, leur utilisation reste très répandue chez les animaux d'élevage, contribuant ainsi à la résistance croissante des microbes à ces médicaments (Lloyd-Price et al., 2016).

Deuxièmement, la santé microbienne, qu'elle concerne les micro-organismes animaux, humains, ou de l'environnement (sol, eau, ...) est intrinsèquement liée à la santé globale de l'écosystème et à la prévention des maladies zoonotiques. De plus, les microbiotes commensaux jouent un rôle majeur dans de nombreuses fonctions essentielles (Shapira, 2016). Le concept « One health » prend alors tout son sens (Trinh et al., 2018). Les communautés microbiennes soumises à des perturbations peuvent perdre leurs capacités de protection et de régulation des pathogènes. Par exemple, la compétition avec des espèces opportunistes ou pathogènes peut favoriser la prolifération de certaines espèces. Il est donc impératif que la perception des microbes et de leur diversité évolue dans l'opinion publique, avec une meilleure connaissance et reconnaissance des services qu'ils offrent. Parallèlement, le microbiote offre de nouvelles perspectives de surveillance de la santé animale. En particulier, il pourrait être utilisé comme bio-indicateur de la santé de la faune sauvage, ouvrant ainsi la voie à une meilleure compréhension des risques zoonotiques (Ribas et al., 2023).

Troisièmement, depuis l'ère industrielle, des perturbations environnementales, notamment dues à notre mode de vie, ont entraîné une homogénéisation et une perte de la diversité des communautés microbiennes, tant dans le sol que dans notre intestin (Delgado-Baquerizo et al., 2021; Sonnenburg & Sonnenburg, 2019; Zunino, 2022). Cette perte de diversité microbienne a des conséquences sur notre santé, favorisant l'augmentation des maladies chroniques telles que l'obésité, le diabète, l'asthme, les allergies, les maladies inflammatoires de l'intestin et l'autisme. Ces maladies ont des coûts importants sur la santé publique et l'économie mondiale (Dominguez Bello et al., 2018).

Ce prisme démontre aussi qu'il est devenu essentiel de minimiser notre empreinte sur l'environnement et de développer une gestion plus efficace des « micro-organismes » afin de trouver des solutions profitables à la diversité du microbiote humain, animal, ainsi que celle du sol. En prenant en compte l'importance de la diversité microbienne et le rôle fonctionnel de certains groupes de micro-organismes dans la régulation des pathogènes, il devient envisageable de manipuler le microbiote à des fins thérapeutiques dans la lutte contre les maladies. De nombreux essais cliniques sont en cours (**Fig.10**), notamment pour traiter les infections intestinales. Cette manipulation peut impliquer l'utilisation de probiotiques, la transplantation du microbiote fécal, l'exploitation de phages. Afin de rétablir l'équilibre du microbiote, des initiatives visant à encourager une alimentation plus saine, des styles de vie plus salutaires, des pratiques agricoles et médicales plus responsables, ainsi que des méthodes de préservation environnementale, notamment pour les sols, sont également mises en place (Sonnenburg & Sonnenburg, 2019; Sun et al., 2023).

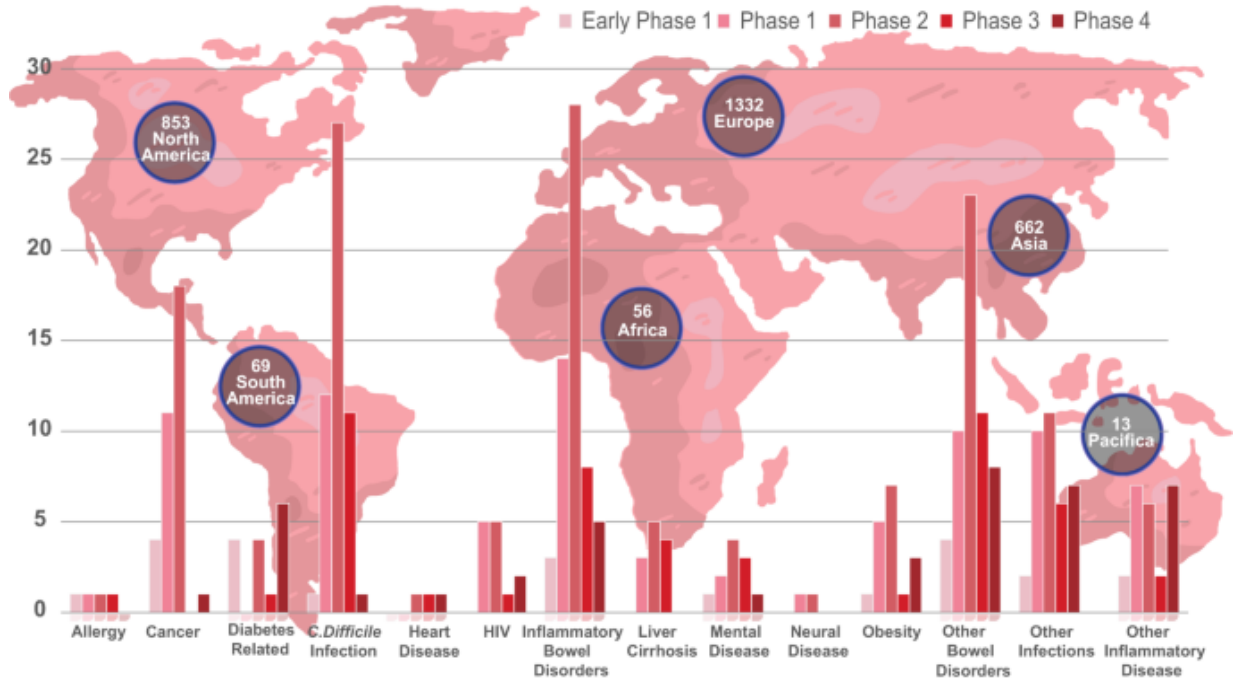


Fig. 10 de Hou et al., (2022) illustrant la répartition des essais cliniques à travers le monde en fonction de leur stade de progression, visant à traiter l'ensemble des maladies chroniques résultant de dysfonctionnements du microbiote.

Ainsi, nous avons relevé une similitude dans la manière dont les microbes et les petits mammifères sont perçus, souvent associés à des 'nuisibles'. Il est désormais nécessaire de rompre avec ce paradigme pour préserver les écosystèmes et la santé humaine ou vétérinaire. Que ce soit dans l'intégration des réflexions publiques concernant la diversité des petits mammifères ou celle du microbiote, nous devons reconsidérer notre système de santé ainsi que nos politiques sociales, en intégrant le concept "One Health." Pour ce faire, il est essentiel d'informer la population. En outre, un point essentiel est d'améliorer la communication et de renforcer les collaborations entre les chercheurs, les responsables politiques (Lefrançois et al., 2023), les représentants des secteurs publics et les médias (Hammes et al., 2021). Ce projet s'inscrit dans cette démarche en mobilisant de nouvelles connaissances et en les diffusant notamment auprès des gestionnaires de sites par des réunions 'focus group', en partageant nos données sur des plateformes ouvertes telles que le GBIF (Global Biodiversity Information Facility, système mondial d'information sur la biodiversité) permettant leur réutilisation, la diffusion d'articles scientifiques selon le principe de science ouverte, la présentation des travaux lors de nombreux congrès, la collaboration inter- et transdisciplinaire, mais aussi la sensibilisation et la médiation auprès du grand public et des médias (films

documentaires « Fabrique des pandémies » et « Vive les microbes » de Marie Monique Robin ou journaux locaux, vidéos animations...).

Il nous reste donc seulement un petit détail à régler (et pas des moindres) : persuader la population humaine et les décideurs politiques de changer leurs habitudes de vie en faveur d'un monde plus respectueux de la nature. Cette transition vers une coexistence harmonieuse avec notre environnement est un impératif pour préserver la biodiversité, des micro-organismes aux grands mammifères, réduire les risques de zoonoses et préserver la santé de notre planète.

## Conclusion générale

Ce projet a exploré les interactions complexes entre la biodiversité des communautés de petits mammifères, leur microbiote et leurs pathogènes, le long d'un gradient d'anthropisation. Ces travaux ouvrent de nouvelles perspectives pour notre compréhension de la circulation des pathogènes et soulignent l'importance de considérer l'écologie des communautés pour une meilleure prévention du danger zoonotique. À l'avenir, nous espérons que ces découvertes contribueront à orienter les politiques vers la préservation de la biodiversité, y compris chez des espèces de petits mammifères présentant un risque potentiel de zoonoses, et à terme promouvoir une coexistence harmonieuse entre les humains, la faune sauvage et les écosystèmes naturels.



Merci



Salut les copains rongeurs, les jeunes mulots, les écureuils curieux, les vieux rats, et les campagnols des champs ! J'ai une histoire passionnante à vous raconter. Il était une fois un humain qui a passé quelques années à nous épier dans nos maisons, qu'elles soient naturelles ou citadines. Il a fouillé nos intestins, traqué nos amis micro-organismes et plongé dans l'univers obscur des agents pathogènes. Il a découvert comment tout cela était inter-relié de manière intergalactique. Plus les humains modifient notre planète et plus ça chamboule notre écosystème, jusqu'à ce que notre marmite déborde et nous impacte nous et nos amis les microbes, laissant la porte ouvert aux vilains pathogènes. Cependant, notre érudit pense que si les humains comprennent mieux ces interactions, ils pourraient bien trouver des moyens de protéger à la fois leur propre espèce et la nôtre. Alors, croisons les pattes (ou les doigts) pour que cette découverte les aide à vivre en harmonie avec nous et la nature !



©Womboart



## Bibliographie du manuscrit (hors articles)

- Abbate, J. L., Galan, M., Razzauti, M., Sironen, T., Voutilainen, L., Henttonen, H., Gasqui, P., Cosson, J.-F., & Charbonnel, N. (2021). Pathogen community composition and co-infection patterns in a wild community of rodents. *BioRxiv*, 2020.02.09.940494. <https://doi.org/10.1101/2020.02.09.940494>
- Abraham, N. M., Liu, L., Jutras, B. L., Yadav, A. K., Narasimhan, S., Gopalakrishnan, V., Ansari, J. M., Jefferson, K. K., Cava, F., Jacobs-Wagner, C., & Fikrig, E. (2017). Pathogen-mediated manipulation of arthropod microbiota to promote infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(5), E781–E790. [https://doi.org/10.1073/PNAS.1613422114/SUPPL\\_FILE/PNAS.1613422114.SAPP.PDF](https://doi.org/10.1073/PNAS.1613422114/SUPPL_FILE/PNAS.1613422114.SAPP.PDF)
- Agence britannique de sécurité sanitaire. (2023). *Emerging infections: how and why they arise*. <https://www.gov.uk/government/publications/emerging-infections-characteristics-epidemiology-and-global-distribution/emerging-infections-how-and-why-they-arise>
- Aladhadh, M. (2023). A Review of Modern Methods for the Detection of Foodborne Pathogens. *Microorganisms* 2023, Vol. 11, Page 1111, 11(5), 1111. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS11051111>
- Alberdi, A., Aizpurua, O., Bohmann, K., Zepeda-Mendoza, M. L., & Gilbert, M. T. P. (2016). Do Vertebrate Gut Metagenomes Confer Rapid Ecological Adaptation? *Trends in Ecology & Evolution*, 31(9), 689–699. <https://doi.org/10.1016/J.TREE.2016.06.008>
- Albery, G. F., Carlson, C. J., Cohen, L. E., Eskew, E. A., Gibb, R., Ryan, S. J., Sweeny, A. R., & Becker, D. J. (2022). Urban-adapted mammal species have more known pathogens. *Nature Ecology & Evolution* 2022 6:6, 6(6), 794–801. <https://doi.org/10.1038/s41559-022-01723-0>
- Alderson, J., Quastel, M., Wilson, E., & Bellamy, D. (2020). Factors influencing the re-emergence of plague in Madagascar. *Emerging Topics in Life Sciences*, 4(4), 423–433. <https://doi.org/10.1042/ETLS20200334>
- Allen, T., Murray, K. A., Zambrana-Torrel, C., Morse, S. S., Rondinini, C., Di Marco, M., Breit, N., Olival, K. J., & Daszak, P. (2017). Global hotspots and correlates of emerging zoonotic diseases. *Nature Communications* 2017 8:1, 8(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41467->

- Almeida, A., Corrigan, R., Sarno, R., Almeida, A. ; & Corrigan, R. ; (2013). The Economic Impact of Commensal Rodents on Small Businesses in Manhattan's Chinatown: trends and possible causes. *Suburban Sustainability*, 1(1), 2. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5038/2164-0866.1.1.2>
- Altizer, S., Dobson, A., Hosseini, P., Hudson, P., Pascual, M., & Rohani, P. (2006). Seasonality and the dynamics of infectious diseases. *Ecology Letters*, 9(4), 467–484. <https://doi.org/10.1111/J.1461-0248.2005.00879.X>
- Altizer, S., Ostfeld, R. S., Johnson, P. T. J., Kutz, S., & Harvell, C. D. (2013). Climate change and infectious diseases: from evidence to a predictive framework. *Science (New York, N.Y.)*, 341(6145), 514–519. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1239401>
- Amraoui, F., & Failloux, A. B. (2016). Chikungunya: an unexpected emergence in Europe. *Current Opinion in Virology*, 21, 146–150. <https://doi.org/10.1016/J.COVIRO.2016.09.014>
- Andreassen, H. P., Sundell, J., Ecke, F., Halle, S., Haapakoski, M., Henttonen, H., Huitu, O., Jacob, J., Johnsen, K., Koskela, E., Luque-Larena, J. J., Lecomte, N., Leirs, H., Mariën, J., Neby, M., Rätti, O., Sievert, T., Singleton, G. R., van Cann, J., ... Ylönen, H. (2020). Population cycles and outbreaks of small rodents: ten essential questions we still need to solve. *Oecologia* 2020 195:3, 195(3), 601–622. <https://doi.org/10.1007/S00442-020-04810-W>
- Angelakis, E., & Raoult, D. (2011). Emergence of Q fever. *Iranian Journal of Public Health*, 40(3), 1. [/pmc/articles/PMC3481653/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23481653/)
- Anthony, S. J., Epstein, J. H., Murray, K. A., Navarrete-Macias, I., Zambrana-Torrel, C. M., Solovyov, A., Ojeda-Flores, R., Arrigo, N. C., Islam, A., Khan, S. A., Hosseini, P., Bogich, T. L., Olival, K. J., Sanchez-Leon, M. D., Karesh, W. B., Goldstein, T., Luby, S. P., Morse, S. S., Mazet, J. A. K., ... Lipkin, W. I. (2013). A Strategy To Estimate Unknown Viral Diversity in Mammals. *MBio*, 4(5). <https://doi.org/10.1128/MBIO.00598-13>
- Aplin, K. P., Brown, P. R., Jacob, J., Krebs, C. J., & Singleton, G. R. (2003). Field methods for rodent studies in Asia and the Indo-Pacific. *Monographs*. <https://doi.org/10.22004/AG.ECON.114053>

- Avarre, Jean-Christophe, dir, Gosselin-Grenet, & As. (2020). Le saut d'espèce : quand un virus animal engendre l'émergence d'une maladie humaine. *The Conversation*, 4 novembre 2020, en ligne [4 p.]. <https://hal.science/hal-03000390>
- Aviat, F., Blanchard, B., Michel, V., Blanchet, B., Branger, C., Hars, J., Mansotte, F., Brasme, L., De Champs, C., Bolut, P., Mondot, P., Faliu, J., Rochereau, S., Kodjo, A., & Andre-Fontaine, G. (2009). Leptospira exposure in the human environment in France: A survey in feral rodents and in fresh water. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 32(6), 463–476. <https://doi.org/10.1016/J.CIMID.2008.05.004>
- Ayral, F., Djelouadji, Z., Raton, V., Zilber, A. L., Gasqui, P., Faure, E., Baurier, F., Vourc'h, G., Kodjo, A., & Combes, B. (2016). Hedgehogs and Mustelid Species: Major Carriers of Pathogenic Leptospira, a Survey in 28 Animal Species in France (20122015). *PLOS ONE*, 11(9), e0162549. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0162549>
- Baker, P. J., Ansell, R. J., Dodds, P. A. A., Webber, C. E., & Harris, S. (2003). Factors affecting the distribution of small mammals in an urban area. *Mammal Review*, 33(1), 95–100. <https://doi.org/10.1046/J.1365-2907.2003.00003.X>
- Baker, R. E., Mahmud, A. S., Miller, I. F., Rajeev, M., Rasambainarivo, F., Rice, B. L., Takahashi, S., Tatem, A. J., Wagner, C. E., Wang, L. F., Wesolowski, A., & Metcalf, C. J. E. (2021). Infectious disease in an era of global change. *Nature Reviews Microbiology* 2021 20:4, 20(4), 193–205. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00639-z>
- Baláž, I., & Ambros, M. (2010). Distribution and biology of Muridae family (Rodentia) in Slovakia. 1st part: Chionomys nivalis, Microtus tatricus, Microtus subterraneus, Myodes glareolus. In *Prírodovedec* (Issue 412).
- Barelli, C., Albanese, D., Donati, C., Pindo, M., Dallago, C., Rovero, F., Cavalieri, D., Michael Tuohy, K., Christine Hauffe, H., & De Filippo, C. (2015). Habitat fragmentation is associated to gut microbiota diversity of an endangered primate: Implications for conservation. *Scientific Reports*. <https://doi.org/10.1038/srep14862>
- Barnosky, A. D., Matzke, N., Tomiya, S., Wogan, G. O. U., Swartz, B., Quental, T. B., Marshall, C., McGuire, J. L., Lindsey, E. L., Maguire, K. C., Mersey, B., & Ferrer, E. A. (2011). Has the Earth's sixth mass extinction already arrived? *Nature* 2011 471:7336, 471(7336), 51–57.

<https://doi.org/10.1038/nature09678>

Becker, D. J., Albery, G. F., Sjodin, A. R., Poisot, T., Bergner, L. M., Chen, B., Cohen, L. E., Dallas, T. A., Eskew, E. A., Fagre, A. C., Farrell, M. J., Guth, S., Han, B. A., Simmons, N. B., Stock, M., Teeling, E. C., & Carlson, C. J. (2022). Optimising predictive models to prioritise viral discovery in zoonotic reservoirs. *The Lancet Microbe*, 3(8), e625–e637. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(21\)00245-7](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(21)00245-7)

Belkaid, Y., & Hand, T. W. (2014). Role of the Microbiota in Immunity and Inflammation. *Cell*, 157(1), 121–141. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2014.03.011>

Bezerra-Santos, M. A., Mendoza-Roldan, J. A., Thompson, R. C. A., Dantas-Torres, F., & Otranto, D. (2021). Illegal Wildlife Trade: A Gateway to Zoonotic Infectious Diseases. *Trends in Parasitology*, 37(3), 181–184. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2020.12.005>

Bharti, R., & Grimm, D. G. (2021). Current challenges and best-practice protocols for microbiome analysis. *Briefings in Bioinformatics*, 22(1), 178–193. <https://doi.org/10.1093/BIB/BBZ155>

Boey, K., Shiokawa, K., & Rajeev, S. (2019). Leptospira infection in rats: A literature review of global prevalence and distribution. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 13(8), e0007499. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PNTD.0007499>

Bogdziewicz, M., Zwolak, R., Redosh, L., Rychlik, L., & Crone, E. E. (2016). Negative effects of density on space use of small mammals differ with the phase of the masting-induced population cycle. *Ecology and Evolution*, 6(23), 8423–8430. <https://doi.org/10.1002/ECE3.2513>

*Bold Systems v4*. (n.d.). Retrieved July 11, 2023, from <https://www.boldsystems.org/>

Bolyen, E., Rideout, J. R., Dillon, M. R., Bokulich, N. A., Abnet, C. C., Al-Ghalith, G. A., Alexander, H., Alm, E. J., Arumugam, M., Asnicar, F., Bai, Y., Bisanz, J. E., Bittinger, K., Brejnrod, A., Brislawn, C. J., Brown, C. T., Callahan, B. J., Caraballo-Rodríguez, A. M., Chase, J., ... Caporaso, J. G. (2019). Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology* 2019 37:8, 37(8), 852–857. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>

- Bonder, M. J., Kurilshikov, A., Tigchelaar, E. F., Mujagic, Z., Imhann, F., Vila, A. V., Deelen, P., Vatanen, T., Schirmer, M., Smekens, S. P., Zhernakova, D. V., Jankipersadsing, S. A., Jaeger, M., Oosting, M., Cenit, M. C., Masclee, A. A. M., Swertz, M. A., Li, Y., Kumar, V., ... Zhernakova, A. (2016). The effect of host genetics on the gut microbiome. *Nature Genetics* 2016 48:11, 48(11), 1407–1412. <https://doi.org/10.1038/ng.3663>
- Booth, M. (2018). Climate Change and the Neglected Tropical Diseases. *Advances in Parasitology*, 100, 39–126. <https://doi.org/10.1016/BS.APAR.2018.02.001>
- Borucki, M. K., Boone, J. D., Rowe, J. E., Bohlman, M. C., Kuhn, E. A., DeBaca, R., & Jeor, S. C. St. (2000). Role of Maternal Antibody in Natural Infection of *Peromyscus maniculatus* with Sin Nombre Virus. *Journal of Virology*, 74(5), 2426. <https://doi.org/10.1128/JVI.74.5.2426-2429.2000>
- Boulangé, C. L., Neves, A. L., Chilloux, J., Nicholson, J. K., & Dumas, M. E. (2016). Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. *Genome Medicine*, 8(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/S13073-016-0303-2/FIGURES/4>
- Brandell, E. E., Becker, D. J., Sampson, L., & Forbes, K. M. (2020). The rise of disease ecology. *BioRxiv*, 2020.07.16.207100. <https://doi.org/10.1101/2020.07.16.207100>
- Brandell, E. E., Becker, D. J., Sampson, L., & Forbes, K. M. (2021). Demography, education, and research trends in the interdisciplinary field of disease ecology. *Ecology and Evolution*, 11(24), 17581–17592. <https://doi.org/10.1002/ECE3.8466>
- Brila, I., Lavrinienko, A., Tukalenko, E., Ecke, F., Rodushkin, I., Kallio, E. R., Mappes, T., & Watts, P. C. (2021). Low-level environmental metal pollution is associated with altered gut microbiota of a wild rodent, the bank vole (*Myodes glareolus*). *Science of The Total Environment*, 790, 148224. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2021.148224>
- Brooks, A. W., Kohl, K. D., Brucker, R. M., van Opstal, E. J., & Bordenstein, S. R. (2016). Phyllosymbiosis: Relationships and Functional Effects of Microbial Communities across Host Evolutionary History. *PLOS Biology*, 14(11), e2000225. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PBIO.2000225>
- Brun, A., Greusard, M., Reynes, J. M., Grenier, M., Bamoulid, J., Giraudoux, P., Lepiller, Q., Chirouze, C., Bouiller, K., & Bailly, B. (2023). Description of an outbreak of hemorrhagic

- fever with renal syndrome in the southern Jura Mountains, France, in 2021. *Infectious Diseases Now*, 53(4), 104639. <https://doi.org/10.1016/J.IDNOW.2022.12.004>
- Bugarski-Stanojević, V., Blagojević, J., Adnadević, T., Jovanović, V., & Vujošević, M. (2013). Identification of the sibling species *Apodemus sylvaticus* and *Apodemus flavicollis* (Rodentia, Muridae)—Comparison of molecular methods. *Zoologischer Anzeiger*, 252(4), 579–587. <https://doi.org/10.1016/J.JCZ.2012.11.004>
- Byers, K. A., Lee, M. J., Donovan, C. M., Patrick, D. M., & Himsworth, C. G. (2017). A novel method for affixing Global Positioning System (GPS) tags to urban Norway rats (*Rattus norvegicus*): feasibility, health impacts and potential for tracking movement. *Journal of Urban Ecology*, 3(1), 1–7. <https://doi.org/10.1093/JUE/JUX010>
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., & Holmes, S. P. (2017). Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis. *The ISME Journal* 2017 11:12, 11(12), 2639–2643. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.119>
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods* 2016 13:7, 13(7), 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- Camacho, C., Coulouris, G., Avagyan, V., Ma, N., Papadopoulos, J., Bealer, K., & Madden, T. L. (2009). BLAST+: architecture and applications. *BMC Bioinformatics*, 10, 421. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-10-421>
- Campbell, J. H., Foster, C. M., Vishnivetskaya, T., Campbell, A. G., Yang, Z. K., Wymore, A., Palumbo, A. V., Chesler, E. J., & Podar, M. (2012). Host genetic and environmental effects on mouse intestinal microbiota microbe-microbe and microbe-host interactions. *The ISME Journal*, 6, 2033–2044. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.54>
- Carroll, D., Daszak, P., Wolfe, N. D., Gao, G. F., Morel, C. M., Morzaria, S., Pablos-Méndez, A., Tomori, O., & Mazet, J. A. K. (2018). The Global Virome Project. *Science*, 359(6378), 872–874. [https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAP7463/SUPPL\\_FILE/AAP7463-CARROLL-SM.PDF](https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAP7463/SUPPL_FILE/AAP7463-CARROLL-SM.PDF)
- Casadevall, A., & Pirofski, L. A. (2000). Host-Pathogen Interactions: Basic Concepts of Microbial Commensalism, Colonization, Infection, and Disease. *Infection and Immunity*, 68(12), 6511. <https://doi.org/10.1128/IAI.68.12.6511-6518.2000>

- Casadevall, A., & Pirofski, L. A. (2019). Benefits and costs of animal virulence for microbes. *MBio*, 10(3). <https://doi.org/10.1128/MBIO.00863-19/ASSET/91DB2DC0-5E1D-4024-BF86-F2E68F5B097D/ASSETS/GRAPHIC/MBIO.00863-19-F0001.JPEG>
- Casadevall, A., & Pirofski, L. anne. (2001). Host-Pathogen Interactions: The Attributes of Virulence. *The Journal of Infectious Diseases*, 184(3), 337–344. <https://doi.org/10.1086/322044>
- Caspi, T., Johnson, J. R., Lambert, M. R., Schell, C. J., & Sih, A. (2022). Behavioral plasticity can facilitate evolution in urban environments. *Trends in Ecology & Evolution*, 37(12), 1092–1103. <https://doi.org/10.1016/J.TREE.2022.08.002>
- Castel, G., Alburkat, H., Tatar, C., Dutra, L., Criado, M., Bouilloud, M., Pradel, J., Sironen, T., & Charbonnel, N. (2023). Puumala orthohantavirus circulation in its wild reservoir, the bank vole, during the 2021 outbreak of hemorrhagic fever with renal syndrome in Jura, France. *Infectious Diseases Now*, 53(8), 104767. <https://doi.org/10.1016/J.IDNOW.2023.104767>
- Chase, J. M., & Myers, J. A. (2011). *Disentangling the importance of ecological niches from stochastic processes across scales*. <https://doi.org/10.1098/rstb.2011.0063>
- Chatterjee, P., Nair, P., Chersich, M., Terefe, Y., Chauhan, A. S., Quesada, F., & Simpson, G. (2021). One Health, “Disease X” & the challenge of “Unknown” Unknowns. *The Indian Journal of Medical Research*, 153(3), 264. [https://doi.org/10.4103/IJMR.IJMR\\_601\\_21](https://doi.org/10.4103/IJMR.IJMR_601_21)
- Chesson, P. (2003). Mechanisms of Maintenance of Species Diversity. *Https://Doi.Org/10.1146/Annurev.Ecolsys.31.1.343*, 31, 343–366. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.ECOLSYS.31.1.343>
- Churakov, G., Sadasivuni, M. K., Rosenbloom, K. R., Huchon, D., Brosius, J., & Schmitz, J. (2010). Rodent Evolution: Back to the Root. *Molecular Biology and Evolution*, 27(6), 1315–1326. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSQ019>
- Civitello, D. J., Cohen, J., Fatima, H., Halstead, N. T., Liriano, J., McMahon, T. A., Ortega, C. N., Sauer, E. L., Sehgal, T., Young, S., & Rohr, J. R. (2015). Biodiversity inhibits parasites: Broad evidence for the dilution effect. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(28), 8667–8671. <https://doi.org/10.1073/pnas.1506279112>

- Clement, J., LeDuc, J. W., Lloyd, G., Reynes, J. M., Reynes, J., McElhinney, L., & Lee, H. W. (2019). Wild Rats, Laboratory Rats, Pet Rats: Global Seoul Hantavirus Disease Revisited. *Viruses* 2019, Vol. 11, Page 652, 11(7), 652. <https://doi.org/10.3390/V11070652>
- Clement, J., Leduc, J. W., McElhinney, L. M., Reynes, J. M., Van Ranst, M., & Calisher, C. H. (2019). Clinical Characteristics of Ratborne Seoul Hantavirus Disease. *Emerging Infectious Diseases*, 25(2), 387. <https://doi.org/10.3201/EID2502.181643>
- Combe, M., Velvin, C. J., Morris, A., Garchitorena, A., Carolan, K., Sanhueza, D., Roche, B., Couppié, P., Guégan, J.-F., & Gozlan, R. E. (2019). Global and local environmental changes as drivers of Buruli ulcer emergence. <https://doi.org/10.1038/Emi.2017.7>, 6(4), 1–11. <https://doi.org/10.1038/EMI.2017.7>
- Contini, C., Nuzzo, M. Di, Barp, N., Bonazza, A., de Giorgio, R., Tognon, M., & Rubino, S. (2020). The novel zoonotic COVID-19 pandemic: An expected global health concern. *Journal of Infection in Developing Countries*, 14(3), 254–264. <https://doi.org/10.3855/JIDC.12671>
- Coomber, F. G., Smith, B. R., August, T. A., Harrower, C. A., Powney, G. D., & Mathews, F. (2021). Using biological records to infer long-term occupancy trends of mammals in the UK. *Biological Conservation*, 264, 109362. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCON.2021.109362>
- CORINE Land Cover | Données et études statistiques. (n.d.). Retrieved June 10, 2022, from <https://www.statistiques.developpement-durable.gouv.fr/corine-land-cover-0>
- Costa, F., Hagan, J. E., Calcagno, J., Kane, M., Torgerson, P., Martinez-Silveira, M. S., Stein, C., Abela-Ridder, B., & Ko, A. I. (2015). Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9(9). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PNTD.0003898>
- Cunningham, A. A., Daszak, P., & Wood, J. L. N. (2017). One health, emerging infectious diseases and wildlife: Two decades of progress? In *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0167>
- Dash, N. R., Khoder, G., Nada, A. M., & Al Bataineh, M. T. (2019). Exploring the impact of *Helicobacter pylori* on gut microbiome composition. *PLOS ONE*, 14(6), e0218274. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218274>



- Daszak, P., Cunningham, A. A., & Hyatt, A. D. (2000). Emerging infectious diseases of wildlife - Threats to biodiversity and human health. *Science*, 287(5452), 443–449. [https://doi.org/10.1126/SCIENCE.287.5452.443/SUPPL\\_FILE/1041321C2.GIF](https://doi.org/10.1126/SCIENCE.287.5452.443/SUPPL_FILE/1041321C2.GIF)
- Davidson, A. M., Jennions, M., & Nicotra, A. B. (2011). Do invasive species show higher phenotypic plasticity than native species and, if so, is it adaptive? A meta-analysis. *Ecology Letters*, 14(4), 419–431. <https://doi.org/10.1111/J.1461-0248.2011.01596.X>
- de Bondt, H., de Wilde, M., & Jaffe, R. (2023). Rats claiming rights? More-than-human acts of denizenship in Amsterdam. *PoLAR: Political and Legal Anthropology Review*, 46(1), 67–81. <https://doi.org/10.1111/PLAR.12530>
- Delgado-Baquerizo, M., Eldridge, D. J., Liu, Y.-R., Sokoya, B., Wang, J.-T., Hu, H.-W., He, J.-Z., Bastida, F., Moreno, J. L., Bamigboye, A. R., Blanco-Pastor, J. L., Cano-Díaz, C., Illán, J. G., Makhalanyaane, T. P., Siebe, C., Trivedi, P., Zaady, E., Verma, J. P., Wang, L., ... Fierer, N. (2021). Global homogenization of the structure and function in the soil microbiome of urban greenspaces. *Science Advances*, 7(28). <https://doi.org/10.1126/SCIADV.ABG5809>
- Destoumieux-Garzón, D., Mavingui, P., Boetsch, G., Boissier, J., Darriet, F., Duboz, P., Fritsch, C., Giraudoux, P., Roux, F. Le, Morand, S., Paillard, C., Pontier, D., Sueur, C., & Voituron, Y. (2018). The one health concept: 10 years old and a long road ahead. *Frontiers in Veterinary Science*, 5(FEB), 306018. <https://doi.org/10.3389/FVETS.2018.00014/BIBTEX>
- Devi, P., Khan, A., Chattopadhyay, P., Mehta, P., Sahni, S., Sharma, S., & Pandey, R. (2021). Co-infections as Modulators of Disease Outcome: Minor Players or Major Players? *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2021.664386/PDF>
- Dharmarajan, G., Li, R., Chanda, E., Dean, K. R., Dirzo, R., Jakobsen, K. S., Khan, I., Leirs, H., Shi, Z.-L., Wolfe, N. D., Yang, R., Stenseth, N. C., & Wang, W. (2022). The Animal Origin of Major Human Infectious Diseases: What Can Past Epidemics Teach Us About Preventing the Next Pandemic? *Zoonoses*, 2(1). <https://doi.org/10.15212/ZOONOSES-2021-0028>
- Diagne, C., Galan, M., Tamisier, L., d'Ambrosio, J., Dalecky, A., Bâ, K., Kane, M., Niang, Y., Diallo, M., Sow, A., Tatard, C., Loiseau, A., Fossati-Gaschignard, O., Sembène, M., Cosson, J.-F., Charbonnel, N., & Brouat, C. (2017). Biological invasions in rodent communities: from ecological interactions to zoonotic bacterial infection issues. *BioRxiv*, 108423.

<https://doi.org/10.1101/108423>

- Dillard, B. A., Chung, A. K., Gunderson, A. R., Campbell-Staton, S. C., & Moeller, A. H. (2022). Humanization of wildlife gut microbiota in urban environments. *BioRxiv*, 2022.01.05.475040. <https://doi.org/10.1101/2022.01.05.475040>
- Dobigny, G., Garba, M., Tatard, C., Loiseau, A., Galan, M., Kadaouré, I., Rossi, J. P., Picardeau, M., & Bertherat, E. (2015). Urban Market Gardening and Rodent-Borne Pathogenic *Leptospira* in Arid Zones: A Case Study in Niamey, Niger. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9(10). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PNTD.0004097>
- Dominguez Bello, M. G., Knight, R., Gilbert, J. A., & Blaser, M. J. (2018). Ensure the Health of Future Generations. *Science*, 362(6410), 33–35.
- Droghini, A., Christie, K. S., Kelty, R. R., Schuette, P. A., & Gotthardt, T. (2022). Conservation status, threats, and information needs of small mammals in Alaska. *Conservation Science and Practice*, 4(6), e12671. <https://doi.org/10.1111/CSP2.12671>
- Dubois, A., Castell, G., MURRI, S., PULIDO, C., PONS, J.-B., BENOIT, L., LOISEAU, A., LAKHDAR, L., GALAN, M., MARIANNEAU, P., & N., C. (2018). Bank vole immunoheterogeneity may limit Nephropatia Epidemica emergence in a French non-endemic region. *Parasitology*, 145(3), 393–407. <https://doi.org/10.1017/S0031182017001548>
- Dufour, B. (2017). Les causes de l'émergence des maladies infectieuses. *Bulletin De L'Academie Nationale De Medecine*, 201(7), 1189. [https://doi.org/10.1016/S0001-4079\(19\)30410-8](https://doi.org/10.1016/S0001-4079(19)30410-8)
- Dumbrell, A. J., Nelson, M., Helgason, T., Dytham, C., & Fitter, A. H. (2009). Relative roles of niche and neutral processes in structuring a soil microbial community. *The ISME Journal* 2010 4:3, 4(3), 337–345. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.122>
- Dunson, W. A., & Travis, J. (1991). The Role of Abiotic Factors in Community Organization. <https://doi.org/10.1086/285270>, 138(5), 1067–1091. <https://doi.org/10.1086/285270>
- Engel, P., Martinson, V. G., & Moran, N. A. (2012). Functional diversity within the simple gut microbiota of the honey bee. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(27), 11002–11007. <https://doi.org/10.1073/pnas.1202970109>

- Engering, A., Hogerwerf, L., & Slingenbergh, J. (2013). Pathogen–host–environment interplay and disease emergence. *Emerging Microbes & Infections*, 2(2), e5. <https://doi.org/10.1038/EMI.2013.5>
- Escudié, F., Auer, L., Bernard, M., Mariadassou, M., Cauquil, L., Vidal, K., Maman, S., Hernandez - Raquet, G., Combes, S., & Raldine Pascal, G. (2018). *FROGS: Find, Rapidly, OTUs with Galaxy Solution*. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx791>
- Everard, A., & Cani, P. D. (2013). Diabetes, obesity and gut microbiota. In *Best Practice and Research: Clinical Gastroenterology*. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2013.03.007>
- Ezenwa, V. O., Prieur-Richard, A. H., Roche, B., Bailly, X., Becquart, P., García-Peña, G. E., Hosseini, P. R., Keesing, F., Rizzoli, A., Suzán, G., Vignuzzi, M., Vittecoq, M., Mills, J. N., & Guégan, J. F. (2015). Interdisciplinarity and Infectious Diseases: An Ebola Case Study. *PLoS Pathogens*, 11(8). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1004992>
- Fackelmann, G., Gillingham, M. A. F., Schmid, J., Heni, A. C., Wilhelm, K., Schwensow, N., & Sommer, S. (2021). Human encroachment into wildlife gut microbiomes. *Communications Biology* 2021 4:1, 4(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02315-7>
- Fargione, J., Brown, C. S., & Tilman, D. (2003). Community assembly and invasion: an experimental test of neutral versus niche processes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(15), 8916–8920. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1033107100>
- Fichet-Calvet, E., & Rogers, D. J. (2009). Risk Maps of Lassa Fever in West Africa. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 3(3), e388. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PNTD.0000388>
- Fischer, C., Gayer, C., Kurucz, K., Riesch, F., Tschardtke, T., & Batáry, P. (2018). Ecosystem services and disservices provided by small rodents in arable fields: Effects of local and landscape management. *Journal of Applied Ecology*, 55(2), 548–558. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13016>
- Fischer, J. D., Schneider, S. C., Ahlers, A. A., & Miller, J. R. (2015). Categorizing wildlife responses to urbanization and conservation implications of terminology. *Conservation Biology*, 29(4), 1246–1248. <https://doi.org/10.1111/COBI.12451>

- Forester, B. R., Beever, E. A., Darst, C., Szymanski, J., & Funk, W. C. (2022). Linking evolutionary potential to extinction risk: applications and future directions. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 20(9), 507–515. <https://doi.org/10.1002/FEE.2552>
- Frelat, R., Kortsch, S., Kröncke, I., Neumann, H., Nordström, M. C., Olivier, P. E. N., & Sell, A. F. (2022). Food web structure and community composition: a comparison across space and time in the North Sea. *Ecography*, 2022(2). <https://doi.org/10.1111/ECOG.05945>
- Frosh, P., & Georgiou, M. (2022). Covid-19: The cultural constructions of a global crisis. <https://doi.org/10.1177/13678779221095106>, 25(3–4), 233–252. <https://doi.org/10.1177/13678779221095106>
- Galan, M., Razzauti, M., Bard, E., Bernard, M., Brouat, C., Charbonnel, N., Dehne-Garcia, A., Loiseau, A., Tatard, C., Tamisier, L., Vayssier-Taussat, M., Vignes, H., & Cosson, J.-F. (2016a). 16S rRNA Amplicon Sequencing for Epidemiological Surveys of Bacteria in Wildlife. *MSystems*, 1(4), 1–22. <https://doi.org/10.1128/msystems.00032-16>
- Galan, M., Razzauti, M., Bard, E., Bernard, M., Brouat, C., Charbonnel, N., Dehne-Garcia, A., Loiseau, A., Tatard, C., Tamisier, L., Vayssier-Taussat, M., Vignes, H., & Cosson, J.-F. (2016b). 16S rRNA Amplicon Sequencing for Epidemiological Surveys of Bacteria in Wildlife. *MSystems*, 1(4), 32–48. <https://doi.org/10.1128/MSYSTEMS.00032-16>
- GEPMA. *Identification des micromammifères capturés ou trouvés morts Guide pour la saisie des données sur faune-alsace.*
- Gibb, R., Redding, D. W., Chin, K. Q., Donnelly, C. A., Blackburn, T. M., Newbold, T., & Jones, K. E. (2020). Zoonotic host diversity increases in human-dominated ecosystems. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2562-8>
- Gire, S. K., Goba, A., Andersen, K. G., Sealfon, R. S. G., Park, D. J., Kanneh, L., Jalloh, S., Momoh, M., Fullah, M., Dudas, G., Wohl, S., Moses, L. M., Yozwiak, N. L., Winnicki, S., Matranga, C. B., Malboeuf, C. M., Qu, J., Gladden, A. D., Schaffner, S. F., ... Sabeti, P. C. (2014). Genomic surveillance elucidates Ebola virus origin and transmission during the 2014 outbreak. *Science (New York, N.Y.)*, 345(6202), 1369–1372. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1259657>
- Goertz, S., De Menezes, A. B., Birtles, R. J., Fenn Id, J., Lowe, A. E., Maccoll, A. D. C., Poulin, B.,

- Id, S. Y., Bradley, J. E., & Taylor, C. H. (2019). *Geographical location influences the composition of the gut microbiota in wild house mice (Mus musculus domesticus) at a fine spatial scale*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222501>
- González-Varo, J. P., Biesmeijer, J. C., Bommarco, R., Potts, S. G., Schweiger, O., Smith, H. G., Steffan-Dewenter, I., Szentgyörgyi, H., Woyciechowski, M., & Vilà, M. (2013). Combined effects of global change pressures on animal-mediated pollination. *Trends in Ecology and Evolution*, 28(9), 524–530. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2013.05.008>
- Gouy, M., Guindon, S., & Gascuel, O. (2010). SeaView Version 4: A Multiplatform Graphical User Interface for Sequence Alignment and Phylogenetic Tree Building. *Molecular Biology and Evolution*, 27(2), 221–224. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSP259>
- Griffiths, E. C., Pedersen, A. B., Fenton, A., & Petchey, O. L. (2014). Analysis of a summary network of co-infection in humans reveals that parasites interact most via shared resources. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281(1782). <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.2286>
- Guégan, J. F., Ayoub, A., Cappelle, J., & De Thoisy, B. (2020). Forests and emerging infectious diseases: unleashing the beast within. *Environmental Research Letters*, 15(8), 083007. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/AB8DD7>
- Guégan, J. F., de Thoisy, B., Gomez-Gallego, M., & Jactel, H. (2023). World forests, global change, and emerging pests and pathogens. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 61, 101266. <https://doi.org/10.1016/J.COSUST.2023.101266>
- Guernier, V., Hochberg, M. E., & Guégan, J. F. (2004). Ecology Drives the Worldwide Distribution of Human Diseases. *PLOS Biology*, 2(6), e141. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PBIO.0020141>
- Gundel, P. E., Rudgers, J. A., & Ghera, C. M. (2011). Incorporating the process of vertical transmission into understanding of host–symbiont dynamics. *Oikos*, 120(8), 1121–1128. <https://doi.org/10.1111/J.1600-0706.2011.19299.X>
- Gutiérrez-Bugallo, G., Piedra, L. A., Rodríguez, M., Bisset, J. A., Lourenço-de-Oliveira, R., Weaver, S. C., Vasilakis, N., & Vega-Rúa, A. (2019). Vector-borne transmission and evolution of Zika virus. *Nature Ecology & Evolution*, 3(4), 561–569.

<https://doi.org/10.1038/S41559-019-0836-Z>

- Guy, C., Thiagavel, J., Mideo, N., & Ratcliffe, J. M. (2019). Phylogeny matters: revisiting ‘a comparison of bats and rodents as reservoirs of zoonotic viruses.’ *Royal Society Open Science*, 6(2). <https://doi.org/10.1098/RSOS.181182>
- Haakenstad, A., Yearwood, J. A., Fullman, N., Bintz, C., Bienhoff, K., Weaver, M. R., Nandakumar, V., Joffe, J. N., LeGrand, K. E., Knight, M., Abbafati, C., Abbasi-Kangevari, M., Abdoli, A., Abeldaño Zuñiga, R. A., Adedeji, I. A., Adekanmbi, V., Adetokunboh, O. O., Afzal, M. S., Afzal, S., ... Lozano, R. (2022). Assessing performance of the Healthcare Access and Quality Index, overall and by select age groups, for 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis from the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet Global Health*, 10(12), e1715–e1743. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(22\)00429-6](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(22)00429-6)
- Halliday, F. W., Jalo, M., & Laine, A. L. (2021). The effect of host community functional traits on plant disease risk varies along an elevational gradient. *ELife*, 10. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.67340>
- Halliday, F. W., & Rohr, J. R. (2019). Measuring the shape of the biodiversity-disease relationship across systems reveals new findings and key gaps. *Nature Communications* 2019 10:1, 10(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13049-w>
- Halliday, F. W., Rohr, J. R., & Laine, A. L. (2020). Biodiversity loss underlies the dilution effect of biodiversity. *Ecology Letters*, 23(11), 1611–1622. <https://doi.org/10.1111/ELE.13590>
- Hammes, L. S., Rossi, A. P., Pedrotti, L. G., Pitrez, P. M., Mutlaq, M. P., & Rosa, R. G. (2021). Is the press properly presenting the epidemiological data on COVID-19? An analysis of newspapers from 25 countries. *Journal of Public Health Policy*, 42(3), 359. <https://doi.org/10.1057/S41271-021-00298-7>
- Han, B. A., Castellanos, A. A., Schmidt, J. P., Fischhoff, I. R., & Drake, J. M. (2021). The ecology of zoonotic parasites in the Carnivora. *Trends in Parasitology*, 37(12), 1096–1110. <https://doi.org/10.1016/J.PT.2021.08.006/ATTACHMENT/7A71EEDA-318C-463F-A943-516A1A8EEBDA/MMC1.XLSX>
- Han, B. A., Kramer, A. M., & Drake, J. M. (2016). Global Patterns of Zoonotic Disease in Mammals. In *Trends in Parasitology* (Vol. 32, Issue 7, pp. 565–577). Elsevier Ltd.

<https://doi.org/10.1016/j.pt.2016.04.007>

- Han, B. A., Schmidt, J. P., Bowden, S. E., & Drake, J. M. (2015). Rodent reservoirs of future zoonotic diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. <https://doi.org/10.1073/pnas.1501598112>
- Hanski, I., Herten, L. von, Fyhrquist, N., Koskinen, K., Torppa, K., Laatikainen, T., Karisola, P., Auvinen, P., Paulin, L., Mäkelä, M. J., Vartiainen, E., Kosunen, T. U., Alenius, H., & Haahtela, T. (2012). Environmental biodiversity, human microbiota, and allergy are interrelated. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *109*(21), 8334–8339. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1205624109>
- Harris, D. B. (2009). Review of negative effects of introduced rodents on small mammals on islands. *Biological Invasions*, *11*(7), 1611–1630. <https://doi.org/10.1007/S10530-008-9393-0/METRICS>
- Hartskeerl, R. A., Collares-Pereira, M., & Ellis, W. A. (2011). Emergence, control and re-emerging leptospirosis: dynamics of infection in the changing world. *Clinical Microbiology and Infection*, *17*(4), 494–501. <https://doi.org/10.1111/J.1469-0691.2011.03474.X>
- Hattendorf, J., Bardosh, K. L., & Zinsstag, J. (2017). One Health and its practical implications for surveillance of endemic zoonotic diseases in resource limited settings. *Acta Tropica*, *165*, 268–273. <https://doi.org/10.1016/J.ACTATROPICA.2016.10.009>
- Hatter, J. A., Kouche, Y. M., Melchor, S. J., Ng, K., Bouley, D. M., Boothroyd, J. C., & Ewald, S. E. (2018). *Toxoplasma gondii* infection triggers chronic cachexia and sustained commensal dysbiosis in mice. *PLOS ONE*, *13*(10), e0204895. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0204895>
- Hendry, A. P., Farrugia, T. J., & Kinnison, M. T. (2008). Human influences on rates of phenotypic change in wild animal populations. *Molecular Ecology*, *17*(1), 20–29. <https://doi.org/10.1111/J.1365-294X.2007.03428.X>
- Henttonen, H. (2022). Importance of demography in understanding disease ecology in small mammals. *Therya*, *13*(1), 33–38. <https://doi.org/10.12933/THERYA-22-1190>
- Hesselbarth, M. H. K., Sciaini, M., With, K. A., Wiegand, K., & Nowosad, J. (2019).

- landscapemetrics: an open-source R tool to calculate landscape metrics. *Ecography*, 42(10), 1648–1657. <https://doi.org/10.1111/ECOG.04617>
- Hird, S. M. (2017). Evolutionary biology needs wild microbiomes. *Frontiers in Microbiology*, 8(APR), 725. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2017.00725/BIBTEX>
- Hopkins, S. R., Lafferty, K. D., Wood, C. L., Olson, S. H., Buck, J. C., De Leo, G. A., Fiorella, K. J., Fornberg, J. L., Garchitorena, A., Jones, I. J., Kuris, A. M., Kwong, L. H., LeBoa, C., Leon, A. E., Lund, A. J., MacDonald, A. J., Metz, D. C. G., Nova, N., Peel, A. J., ... Sokolow, S. H. (2022). Evidence gaps and diversity among potential win–win solutions for conservation and human infectious disease control. *The Lancet Planetary Health*, 6(8), e694–e705. [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(22\)00148-6/ATTACHMENT/D62083CA-BB9D-41AB-BE52-586ECCFC0985/MMC1.PDF](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(22)00148-6/ATTACHMENT/D62083CA-BB9D-41AB-BE52-586ECCFC0985/MMC1.PDF)
- Hopkins, S. R., Sokolow, S. H., Buck, J. C., De Leo, G. A., Jones, I. J., Kwong, L. H., LeBoa, C., Lund, A. J., MacDonald, A. J., Nova, N., Olson, S. H., Peel, A. J., Wood, C. L., & Lafferty, K. D. (2021). How to identify win–win interventions that benefit human health and conservation. *Nature Sustainability*, 4(4), 298–304. <https://doi.org/10.1038/s41893-020-00640-z>
- Hou, K., Wu, Z. X., Chen, X. Y., Wang, J. Q., Zhang, D., Xiao, C., Zhu, D., Koya, J. B., Wei, L., Li, J., & Chen, Z. S. (2022). Microbiota in health and diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2022 7:1, 7(1), 1–28. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00974-4>
- Hoyt, J. R., Langwig, K. E., White, J. P., Kaarakka, H. M., Redell, J. A., Kurta, A., DePue, J. E., Scullon, W. H., Parise, K. L., Foster, J. T., Frick, W. F., & Kilpatrick, A. M. (2018). Cryptic connections illuminate pathogen transmission within community networks. *Nature*, 563(7733), 710–713. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0720-z>
- Huang, Z. Y. X., Halliday, F. W., & Becker, D. J. (2023). Host functional traits as the nexus for multilevel infection patterns. *Trends in Ecology & Evolution*. <https://doi.org/10.1016/J.TREE.2023.08.011>
- HUANG, Z. Y. X., LANGEVELDE, F. VAN, ESTRADA-PEÑA, A., SUZÁN, G., & BOER, W. F. DE. (2016). The diversity–disease relationship: evidence for and criticisms of the dilution effect. *Parasitology*, 143(9), 1075–1086. <https://doi.org/10.1017/S0031182016000536>
- Hubbell, S. P. (2001). *The unified neutral theory of biodiversity and biogeography*.



[http://vrossi.free.fr/GpLectureHubbell/Hubbell\\_Neutral\\_Theory\\_Chap4\\_PC\\_FM.pdf](http://vrossi.free.fr/GpLectureHubbell/Hubbell_Neutral_Theory_Chap4_PC_FM.pdf)

- Hulme-Beaman, A., Dobney, K., Cucchi, T., & Searle, J. B. (2016). An Ecological and Evolutionary Framework for Commensalism in Anthropogenic Environments. *Trends in Ecology & Evolution*, *31*(8), 633–645. <https://doi.org/10.1016/J.TREE.2016.05.001>
- Izquierdo-Rodríguez, E., Fernández-Álvarez, Á., Martín-Carrillo, N., Marchand, B., Feliu, C., Miquel, J., Foronda, P., & Quilichini, Y. (2020). Pathogenic *Leptospira* species in rodents from Corsica (France). *PLOS ONE*, *15*(6), e0233776. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0233776>
- Johnson, C. K., Hitchens, P. L., Pandit, P. S., Rushmore, J., Evans, T. S., Young, C. C. W., & Doyle, M. M. (2020). Global shifts in mammalian population trends reveal key predictors of virus spillover risk. *Proceedings. Biological Sciences*, *287*(1924), 20192736. <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.2736>
- Johnson, C. K., Hitchens, P. L., Pandit, P. S., Rushmore, J., Evans, T. S., Young, C. C. W., & Doyle, M. M. (2020c). Global shifts in mammalian population trends reveal key predictors of virus spillover risk. *Proceedings of the Royal Society B*, *287*(1924). <https://doi.org/10.1098/RSPB.2019.2736>
- Johnson, P. T. J., de Roode, J. C., & Fenton, A. (2015). Why infectious disease research needs community ecology. *Science*, *349*(6252), 1259504–1259504. <https://doi.org/10.1126/science.1259504>
- Jones, K. E., Bielby, J., Cardillo, M., Fritz, S. A., O'dell, J., David, C., Orme, L., Safi, K., Sechrest, W., Boakes, E. H., Carbone, C., Connolly, C., Cutts, M. J., Foster, J. K., Grenyer, R., Habib, M., Plaster, C. A., Price, S. A., Rigby, E. A., ... Purvis, A. (2009). PanTHERIA: a species-level database of life history, ecology, and geography of extant and recently extinct mammals. *Ecology*, *90*(9), 2648–2648. <https://doi.org/10.1890/08-1494.1>
- Jones, K. E., Patel, N. G., Levy, M. A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J. L., & Daszak, P. (2008). Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, *451*(7181), 990–993. <https://doi.org/10.1038/nature06536>
- Jonge, N., Carlsen, B., Christensen, M. H., Pertoldi, C., & Nielsen, J. L. (2022). The Gut Microbiome of 54 Mammalian Species. *Frontiers in Microbiology*, *13*, 886252.

<https://doi.org/10.3389/FMICB.2022.886252/BIBTEX>

- Kamada, N., Chen, G. Y., Inohara, N., & Núñez, G. (2013). Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota. In *Nature Immunology* (Vol. 14, Issue 7, pp. 685–690). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/ni.2608>
- Karesh, W. B., Dobson, A., Lloyd-Smith, J. O., Lubroth, J., Dixon, M. A., Bennett, M., Aldrich, S., Harrington, T., Formenty, P., Loh, E. H., MacHalaba, C. C., Thomas, M. J., & Heymann, D. L. (2012a). Ecology of zoonoses: Natural and unnatural histories. *The Lancet*, 380(9857), 1936–1945. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61678-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61678-X)
- Karger, D. N., Conrad, O., Böhrner, J., Kawohl, T., Kreft, H., Soria-Auza, R. W., Zimmermann, N. E., Linder, H. P., & Kessler, M. (2017). Climatologies at high resolution for the earth's land surface areas. *Scientific Data*, 4. <https://doi.org/10.1038/SDATA.2017.122>
- Keddy, P. A., & Laughlin, D. C. (2021). A General Framework for Community Ecology. A *Framework for Community Ecology*, 1–40. <https://doi.org/10.1017/9781009067881.002>
- Keeling, M. J., & Rohani, P. (2008). *Modeling Infectious Diseases in Humans and Animals*. <https://doi.org/10.1515/9781400841035>
- Keesing, F., Holt, R. D., & Ostfeld, R. S. (2006). Effects of species diversity on disease risk. In *Ecology Letters* (Vol. 9, Issue 4, pp. 485–498). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.00885.x>
- Keesing, Felicia, Belden, L. K., Daszak, P., Dobson, A., Harvell, C. D., Holt, R. D., Hudson, P., Jolles, A., Jones, K. E., Mitchell, C. E., Myers, S. S., Bogich, T., & Ostfeld, R. S. (2010). Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases. *Nature*, 468(7324), 647–652. <https://doi.org/10.1038/nature09575>
- Keesing, Felicia, & Ostfeld, R. S. (2021). Dilution effects in disease ecology. *Ecology Letters*, 00, ele.13875. <https://doi.org/10.1111/ELE.13875>
- Kelt, D. A., & Meserve, P. L. (2014). Status and challenges for conservation of small mammal assemblages in South America. *Biological Reviews*, 89(3), 705–722. <https://doi.org/10.1111/BRV.12080>
- Khalil, H., Ecke, F., Evander, M., Magnusson, M., & Hörnfeldt, B. (2016). Declining ecosystem

- health and the dilution effect. *Scientific Reports*, 6(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/srep31314>
- Khalil, H., Hörnfeldt, B., Evander, M., Magnusson, M., Olsson, G., & Ecke, F. (2014). Dynamics and Drivers of Hantavirus Prevalence in Rodent Populations. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 14(8), 537–551. <https://doi.org/10.1089/vbz.2013.1562>
- Knowles, S. C. L., Eccles, R. M., & Baltrūnaitė, L. (2019). Species identity dominates over environment in shaping the microbiota of small mammals. *Ecology Letters*, 22(5), 826–837. <https://doi.org/10.1111/ELE.13240>
- Kohl, K. D., Skopec, M. M., & Dearing, M. D. (2014). Captivity results in disparate loss of gut microbial diversity in closely related hosts. *Conservation Physiology*, 2(1), cou009–cou009. <https://doi.org/10.1093/conphys/cou009>
- Kohl, Kevin D. (2020). Ecological and evolutionary mechanisms underlying patterns of phyllosymbiosis in host-associated microbial communities. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 375(1798). <https://doi.org/10.1098/RSTB.2019.0251>
- Kophamel, S., Illing, B., Ariel, E., Difalco, M., Skerratt, L. F., Hamann, M., Ward, L. C., Méndez, D., & Munns, S. L. (2022). Importance of health assessments for conservation in noncaptive wildlife. *Conservation Biology*, 36(1). <https://doi.org/10.1111/COBI.13724>
- Kozich, J. J., Westcott, S. L., Baxter, N. T., Highlander, S. K., & Schloss, P. D. (2013). *Development of a Dual-Index Sequencing Strategy and Curation Pipeline for Analyzing Amplicon Sequence Data on the MiSeq Illumina Sequencing Platform*. <https://doi.org/10.1128/AEM.01043-13>
- Kreisinger, J., Bastien, G., Hauffe, H. C., Marchesi, J., & Perkins, S. E. (2015). Interactions between multiple helminths and the gut microbiota in wild rodents. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1675). <https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0295>
- Kreuder Johnson, C., Hitchens, P. L., Smiley Evans, T., Goldstein, T., Thomas, K., Clements, A., Joly, D. O., Wolfe, N. D., Daszak, P., Karesh, W. B., & Mazet, J. K. (2015). Spillover and pandemic properties of zoonotic viruses with high host plasticity. *Scientific Reports*, 5, 1–8. <https://doi.org/10.1038/srep14830>

- Kumar, S., Stecher, G., Suleski, M., & Blair Hedges, S. (2017). TimeTree: A Resource for Timelines, Timetrees, and Divergence Times. *Molecular Biology and Evolution*, 34(7), 1812–1819. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSX116>
- Kumar, S., Suleski, M., Craig, J. M., Kasprowicz, A. E., Sanderford, M., Li, M., Stecher, G., & Hedges, S. B. (2022). TimeTree 5: An Expanded Resource for Species Divergence Times. *Molecular Biology and Evolution*, 39(8). <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSAC174>
- Lachat, T., Brang, P., Bolliger, Markus, K., & Urs-Beat, Bollmann, Brändli, Rita, Bütler, Steffen, Herrmann, Schneideret Beat, O. (n.d.). *Bois mort en forêt. Formation, importance et conservation - Publications - WSL*. Retrieved July 11, 2023, from <https://www.wsl.ch/fr/publications/bois-mort-en-foret-formation-importance-et-conservation-1.html>
- Larsen, O. F. A., & Claassen, E. (2018). The mechanistic link between health and gut microbiota diversity. *Scientific Reports 2018 8:1*, 8(1), 1–5. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20141-6>
- Launiala, A. (2009). How much can a KAP survey tell us about people’s knowledge, attitudes and practices? Some observations from medical anthropology research on malaria in pregnancy in Malawi. *Anthropology Matters*, 11(1). <https://doi.org/10.22582/AM.V11I1.31>
- Lavrinenko, A., Hämäläinen, A., Hindström, R., Tukalenko, E., Boratyński, Z., Kivisaari, K., Mousseau, T. A., Watts, P. C., & Mappes, T. (2021). Comparable response of wild rodent gut microbiome to anthropogenic habitat contamination. *Molecular Ecology*, 30(14), 3485–3499. <https://doi.org/10.1111/MEC.15945>
- Lavrinenko, A., Mappes, T., Tukalenko, E., Mousseau, T. A., Møller, A. P., Knight, R., Morton, J. T., Thompson, L. R., & Watts, P. C. (2018). Environmental radiation alters the gut microbiome of the bank vole *Myodes glareolus*. *The ISME Journal 2018 12:11*, 12(11), 2801–2806. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0214-x>
- Lee, K. A. (2006). Linking immune defenses and life history at the levels of the individual and the species. *Integrative and Comparative Biology*, 46(6), 1000–1015. <https://doi.org/10.1093/ICB/ICL049>

- Lefrançois, T., Malvy, D., Atlani-Duault, L., Benamouzig, D., Druais, P. L., Yazdanpanah, Y., Delfraissy, J. F., & Lina, B. (2023). After 2 years of the COVID-19 pandemic, translating One Health into action is urgent. *The Lancet*, *401*(10378), 789–794. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)01840-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)01840-2)
- Leigh, E. G. (2010). The evolution of mutualism. *Journal of Evolutionary Biology*, *23*(12), 2507–2528. <https://doi.org/10.1111/J.1420-9101.2010.02114.X>
- Lesker, T. R., Durairaj, A. C., Gálvez, E. J. C., Lagkouvardos, I., Baines, J. F., Clavel, T., Sczyrba, A., McHardy, A. C., & Strowig, T. (2020). An Integrated Metagenome Catalog Reveals New Insights into the Murine Gut Microbiome. *Cell Reports*, *30*(9), 2909-2922.e6. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2020.02.036>
- Leung, J. M., Graham, A. L., & Knowles, S. C. L. (2018). Parasite-microbiota interactions with the vertebrate gut: Synthesis through an ecological lens. *Frontiers in Microbiology*, *9*(MAY), 843. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2018.00843/BIBTEX>
- Ley, R. E., Hamady, M., Lozupone, C., Turnbaugh, P. J., Ramey, R. R., Bircher, J. S., Schlegel, M. L., Tucker, T. A., Schrenzel, M. D., Knight, R., & Gordon, J. I. (2008). Evolution of mammals and their gut microbes. *Science*, *320*(5883), 1647–1651. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1155725>
- Li, G., Yin, B., Li, J., Wang, J., Wei, W., Bolnick, D. I., Wan, X., Zhu, B., & Zhang, Z. (2020). Host-microbiota interaction helps to explain the bottom-up effects of climate change on a small rodent species. *The ISME Journal* *2020* *14*:7, *14*(7), 1795–1808. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-0646-y>
- Liang, G., & Bushman, F. D. (2021). The human virome: assembly, composition and host interactions. *Nature Reviews Microbiology* *2021* *19*:8, *19*(8), 514–527. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00536-5>
- Liu, K., Yang, J., & Yuan, H. (2021). Recent progress in research on the gut microbiota and highland adaptation on the Qinghai-Tibet Plateau. *Journal of Evolutionary Biology*, *34*(10), 1514–1530. <https://doi.org/10.1111/JEB.13924>
- Liu, S., Pan, J., Meng, X., Zhu, J., Zhou, J., & Zhu, X. (2021). *Trichinella spiralis* infection decreases the diversity of the intestinal flora in the infected mouse. *Journal of Microbiology*,

- Immunology and Infection*, 54(3), 490–500. <https://doi.org/10.1016/J.JMII.2019.09.009>
- Liu, X., Chen, L., Liu, M., García-Guzmán, G., Gilbert, G. S., & Zhou, S. (2020). Dilution effect of plant diversity on infectious diseases: latitudinal trend and biological context dependence. *Oikos*, 129(4), 457–465. <https://doi.org/10.1111/OIK.07027>
- Lloyd-Price, J., Abu-Ali, G., & Huttenhower, C. (2016). The healthy human microbiome. *Genome Medicine* 2016 8:1, 8(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/S13073-016-0307-Y>
- LoGiudice, K., Ostfeld, R. S., Schmidt, K. A., & Keesing, F. (2003). The ecology of infectious disease: Effects of host diversity and community composition on lyme disease risk. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. <https://doi.org/10.1073/pnas.0233733100>
- Loreau, M. (2010). Linking biodiversity and ecosystems: towards a unifying ecological theory. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1537), 49–60. <https://doi.org/10.1098/RSTB.2009.0155>
- Lowry, H., Lill, A., & Wong, B. B. M. (2013). Behavioural responses of wildlife to urban environments. *Biological Reviews*, 88(3), 537–549. <https://doi.org/10.1111/BRV.12012>
- Luis, A. D., Hayman, D. T. S., O’Shea, T. J., Cryan, P. M., Gilbert, A. T., Pulliam, J. R. C., Mills, J. N., Timonin, M. E., Willis, C. K. R., Cunningham, A. A., Fooks, A. R., Rupprecht, C. E., Wood, J. L. N., & Webb, C. T. (2013). A comparison of bats and rodents as reservoirs of zoonotic viruses: Are bats special? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1756). <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.2753>
- Luis, A. D., O’Shea, T. J., Hayman, D. T. S., Wood, J. L. N., Cunningham, A. A., Gilbert, A. T., Mills, J. N., & Webb, C. T. (2015). Network analysis of host-virus communities in bats and rodents reveals determinants of cross-species transmission. *Ecology Letters*. <https://doi.org/10.1111/ele.12491>
- Macke, E., Tasiemski, A., Massol, F., Callens, M., & Decaestecker, E. (2017). Life history and evolutionary dynamics in light of the gut microbiota. *Oikos*, 126(4), 508–531. <https://doi.org/10.1111/OIK.03900>
- Madrières, S., Tatard, C., Murri, S., Vulin, J., Galan, M., Piry, S., Pulido, C., Loiseau, A., Artige, E.,

- Benoit, L., Leménager, N., Lakhdar, L., Charbonnel, N., Marianneau, P., & Castel, G. (2020). How Bank Vole-PUUV Interactions Influence the Eco-Evolutionary Processes Driving Nephropathia Epidemica Epidemiology—An Experimental and Genomic Approach. *Pathogens* 2020, Vol. 9, Page 789, 9(10), 789. <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS9100789>
- Madureira, H., & Monteiro, A. (2021). Going green and going dense: A systematic review of compatibilities and conflicts in urban research. *Sustainability (Switzerland)*, 13(19), 10643. <https://doi.org/10.3390/SU131910643/S1>
- Magnusson, M., Fischhoff, I. R., Ecke, F., Hörnfeldt, B., & Ostfeld, R. S. (2020). Effect of spatial scale and latitude on diversity–disease relationships. *Ecology*, 101(3). <https://doi.org/10.1002/ecy.2955>
- Maréchal, L., Semple, S., Majolo, B., Qarro, M., Heistermann, M., & MacLarnon, A. (2011). Impacts of tourism on anxiety and physiological stress levels in wild male Barbary macaques. *Biological Conservation*, 144(9), 2188–2193. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCON.2011.05.010>
- Martínez-Mota, R., Kohl, K. D., Orr, T. J., & Denise Dearing, M. (2020). Natural diets promote retention of the native gut microbiota in captive rodents. *The ISME Journal*, 14(1), 67. <https://doi.org/10.1038/S41396-019-0497-6>
- Mathews-Martin, L., Namèche, M., Vourc’h, G., Gasser, S., Lebert, I., Poux, V., Barry, S., Bord, S., Jachacz, J., Chalvet-Monfray, K., Bourdoiseau, G., Pamies, S., Sepúlveda, D., Chambon-Rouvier, S., & René-Martellet, M. (2020). Questing tick abundance in urban and peri-urban parks in the French city of Lyon. *Parasites & Vectors*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/S13071-020-04451-1>
- Maurice, C. F., Knowles, S. C., Ladau, J., Pollard, K. S., Fenton, A., Pedersen, A. B., & Turnbaugh, P. J. (2015). Marked seasonal variation in the wild mouse gut microbiota. *The ISME Journal*, 9, 2423–2434. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.53>
- Mazza, V., Dammhahn, M., Lösche, E., & Eccard, J. A. (2020). Small mammals in the big city: Behavioural adjustments of non-commensal rodents to urban environments. *Global Change Biology*, 26(11), 6326–6337. <https://doi.org/10.1111/gcb.15304>

- Mazzamuto, M. V., Schilling, A. K., & Romeo, C. (2022). Wildlife Disease Monitoring: Methods and Perspectives. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 12(21). <https://doi.org/10.3390/ANI12213032>
- McKenney, E. A., Koelle, K., Dunn, R. R., & Yoder, A. D. (2018). The ecosystem services of animal microbiomes. *Molecular Ecology*, 27(8), 2164–2172. <https://doi.org/10.1111/mec.14532>
- Meerburg, B. G., Singleton, G. R., & Kijlstra, A. (2009). Rodent-borne diseases and their risks for public health. *Http://Dx.Doi.Org/10.1080/10408410902989837*, 35(3), 221–270. <https://doi.org/10.1080/10408410902989837>
- Mena, J. L., Yagui, H., Tejeda, V., Bonifaz, E., Bellemain, E., Valentini, A., Tobler, M. W., Sánchez-Vendizú, P., & Lyet, A. (2021). Environmental DNA metabarcoding as a useful tool for evaluating terrestrial mammal diversity in tropical forests. *Ecological Applications*, 31(5), e02335. <https://doi.org/10.1002/EAP.2335>
- Mendoza, H., Rubio, A. V., García-Peña, G. E., Suzán, G., & Simonetti, J. A. (2019). Does land-use change increase the abundance of zoonotic reservoirs? Rodents say yes. *European Journal of Wildlife Research* 2019 66:1, 66(1), 1–5. <https://doi.org/10.1007/S10344-019-1344-9>
- Michelet, L., Delannoy, S., Devillers, E., Umhang, G., Aspan, A., Juremalm, M., Chirico, J., van der Wal, F. J., Sprong, H., Boye Pihl, T. P., Klitgaard, K., Bødker, R., Fach, P., & Moutailler, S. (2014). High-throughput screening of tick-borne pathogens in Europe. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 4(JUL). <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2014.00103/PDF>
- Miller, E. T., Svanbäck, R., & Bohannan, B. J. M. (2018). Microbiomes as Metacommunities: Understanding Host-Associated Microbes through Metacommunity Ecology. *Trends in Ecology and Evolution*, 33(12), 926–935. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2018.09.002>
- Milne-Price, S., Miazgowiec, K. L., & Munster, V. J. (2014). The emergence of the Middle East respiratory syndrome coronavirus. *Pathogens and Disease*, 71(2), 121–136. <https://doi.org/10.1111/2049-632X.12166>
- Mishra, J., Mishra, Priya, Naveen, , & Arora, K. (2021). Linkages between environmental issues and zoonotic diseases: with reference to COVID-19 pandemic. *Environmental*



*Sustainability* 2021 4:3, 4(3), 455–467. <https://doi.org/10.1007/S42398-021-00165-X>

Moeller, A. H., & Sanders, J. G. (2020). Roles of the gut microbiota in the adaptive evolution of mammalian species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 375(1808). <https://doi.org/10.1098/RSTB.2019.0597>

mondiale de la Santé, O., Organization, W. H., & others. (2023). COVID-19 mortality and progress towards vaccinating older adults--worldwide, 2020--2022--Mortalité associée à la COVID-19 et progrès de la vaccination des personnes âgées--monde entier, 2020-2022. *Weekly Epidemiological Record= Relevé Épidémiologique Hebdomadaire*, 98(05), 53–61.

Montgomery, R. A., & Macdonald, D. W. (2020). COVID-19, Health, Conservation, and Shared Wellbeing: Details Matter. *Trends in Ecology and Evolution*, 35(9), 748–750. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2020.06.001>

Montgomery, W. I., Montgomery, S. S. J., & Reid, N. (2015). Invasive alien species disrupt spatial and temporal ecology and threaten extinction in an insular, small mammal community. *Biological Invasions*, 17(1), 179–189. <https://doi.org/10.1007/S10530-014-0717-Y/METRICS>

Moore, R. A., & Griffen, D. (2023). Hantavirus Syndrome. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513243/>

Mora, C., McKenzie, T., Gaw, I. M., Dean, J. M., von Hammerstein, H., Knudson, T. A., Setter, R. O., Smith, C. Z., Webster, K. M., Patz, J. A., & Franklin, E. C. (2022). Over half of known human pathogenic diseases can be aggravated by climate change. *Nature Climate Change* 2022 12:9, 12(9), 869–875. <https://doi.org/10.1038/s41558-022-01426-1>

Morand, S., & Lajaunie, C. (2017). *Biodiversity and health : linking life, ecosystems and societies*.

Morand, Serge, & Figuié, M. (2016). *Emergence de maladies infectieuses: Risques et enjeux de société*. Éditions Quae.

Morse, S. S., Mazet, J. A. K., Woolhouse, M., Parrish, C. R., Carroll, D., Karesh, W. B., Zambrana-Torrel, C., Lipkin, W. I., & Daszak, P. (2012). Prediction and prevention of the next pandemic zoonosis. In *The Lancet* (Vol. 380, Issue 9857, pp. 1956–1965). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61684-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61684-5)

- Moya, A., & Ferrer, M. (2016). Functional Redundancy-Induced Stability of Gut Microbiota Subjected to Disturbance. In *Trends in Microbiology* (Vol. 24, Issue 5, pp. 402–413). <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.02.002>
- Murray, M. H., Sánchez, C. A., Becker, D. J., Byers, K. A., Worsley-Tonks, K. E. L., & Craft, M. E. (2019). City sicker? A meta-analysis of wildlife health and urbanization. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 17(10), 575–583. <https://doi.org/10.1002/FEE.2126>
- Nieto-Rabiela, F., Wiratsudakul, A., Suzán, G., & Rico-Chávez, O. (2019). Viral networks and detection of potential zoonotic viruses in bats and rodents: A worldwide analysis. *Zoonoses and Public Health*, 66(6), 655. <https://doi.org/10.1111/ZPH.12618>
- Nyangale, E. P., Mottram, D. S., & Gibson, G. R. (2012). Gut microbial activity, implications for health and disease: The potential role of metabolite analysis. In *Journal of Proteome Research*. <https://doi.org/10.1021/pr300637d>
- O'Brien, E., & Xagorarakis, I. (2019). Understanding temporal and spatial variations of viral disease in the US: The need for a one-health-based data collection and analysis approach. *One Health*, 8. <https://doi.org/10.1016/J.ONEHLT.2019.100105>
- Ochoa-Repáraz, J., & Kasper, L. H. (2016). The Second Brain: Is the Gut Microbiota a Link Between Obesity and Central Nervous System Disorders? *Current Obesity Reports*, 5(1), 51–64. <https://doi.org/10.1007/S13679-016-0191-1/METRICS>
- Ofori, B. Y., Garshong, R. A., Gbogbo, F., Owusu, E. H., & Attuquayefio, D. K. (2018). Urban green area provides refuge for native small mammal biodiversity in a rapidly expanding city in Ghana. *Environmental Monitoring and Assessment*, 190(8), 1–11. <https://doi.org/10.1007/S10661-018-6858-1/METRICS>
- Olival, K. J., Hosseini, P. R., Zambrana-Torrel, C., Ross, N., Bogich, T. L., & Daszak, P. (2017). Host and viral traits predict zoonotic spillover from mammals. *Nature* 2017 546:7660, 546(7660), 646–650. <https://doi.org/10.1038/nature22975>
- Ostfeld, R. S., Canham, C. D., Oggenfuss, K., Winchcombe, R. J., & Keesing, F. (2006). Climate, Deer, Rodents, and Acorns as Determinants of Variation in Lyme-Disease Risk. *PLoS Biology*, 4(6), e145. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040145>

- Ostfeld, R. S., & Keesing, F. (2012). Effects of Host Diversity on Infectious Disease. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 43(1), 157–182. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-102710-145022>
- Ostfeld, R. S., & Keesing, F. (2022). The ecology of infectious diseases: an homage to multi-factor perspectives. *Therya*, 13(1), 39–44. <https://doi.org/10.12933/THERYA-22-1183>
- Ostfeld, R. S., Levi, T., Keesing, F., Oggenfuss, K., & Canham, C. D. (2018). Tick-borne disease risk in a forest food web. In *Ecology* (Vol. 99, Issue 7). <https://doi.org/10.1002/ecy.2386>
- Ostfeld, R. S., & LoGiudice, K. (2003). Community disassembly, biodiversity loss, and the erosion of an ecosystem service. *Ecology*, 84(6), 1421–1427. <https://doi.org/10.1890/02-3125>
- Ozili, P., & Arun, T. (2020). *Spillover of COVID-19: Impact on the Global Economy*.
- Pagès, M., Chaval, Y., Herbreteau, V., Waengsothorn, S., Cosson, J. F., Hugot, J. P., Morand, S., & Michaux, J. (2010). Revisiting the taxonomy of the Rattini tribe: a phylogeny-based delimitation of species boundaries. *BMC Evolutionary Biology*, 10(1), 184. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-184>
- Pandit, P. S., Anthony, S. J., Goldstein, T., Olival, K. J., Doyle, M. M., Gardner, N. R., Bird, B., Smith, W. A., Wolking, D., Gilardi, K., Monagin, C., Kelly, T., Uhart, M., Epstein, J. H., Machalaba, C., Rostal, M. K., Dawson, P., Hagan, E., Sullivan, A., ... Johnson, C. K. (2022). Predicting the potential for zoonotic transmission and host associations for novel viruses. *Communications Biology* 2022 5:1, 5(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s42003-022-03797-9>
- Parsons, M. H., Sarno, R. J., & Deutsch, M. A. (2015). Jump-starting urban rat research: Conspecific pheromones recruit wild rats into a behavioral and pathogen-monitoring assay. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 3(DEC), 166172. <https://doi.org/10.3389/FEVO.2015.00146/BIBTEX>
- Peters, M. A. (2020). Love and social distancing in the time of COVID-19 : The philosophy and literature of pandemics. *Pandemic Education and Viral Politics*, 59–65. <https://doi.org/10.4324/9781003119579-5>
- Pickard, J. M., Zeng, M. Y., Caruso, R., & Núñez, G. (2017). Gut Microbiota: Role in Pathogen

- Colonization, Immune Responses and Inflammatory Disease. *Immunological Reviews*, 279(1), 70. <https://doi.org/10.1111/IMR.12567>
- Pinky, L., & Dobrovolsky, H. M. (2016). Coinfections of the Respiratory Tract: Viral Competition for Resources. *PLOS ONE*, 11(5), e0155589. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155589>
- Plourde, B. T., Burgess, T. L., Eskew, E. A., Roth, T. M., Stephenson, N., & Foley, J. E. (2017). Are disease reservoirs special? Taxonomic and life history characteristics. *PLOS ONE*, 12(7), e0180716. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0180716>
- Plowright, R. K., Reaser, J. K., Locke, H., Woodley, S. J., Patz, J. A., Becker, D. J., Oppler, G., Hudson, P. J., & Tabor, G. M. (2021). Land use-induced spillover: a call to action to safeguard environmental, animal, and human health. *The Lancet Planetary Health*, 5(4), e237–e245. [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(21\)00031-0](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(21)00031-0)
- Poitevin, F., & Quéré, J.-P. (1947-. . . ). (2021). *Insectivores et rongeurs du Sud de la France*. <https://www.worldcat.org/title/1260451817>
- Pradel, J., Bouilloud, M., Loiseau, A., Piry, S., Galan, M., Artige, E., Castel, G., Ferrero, J., Gallet, R., Thuel, G., Vieira, N., & Charbonnel, N. (2022). Small terrestrial mammals (Rodentia and Soricomorpha) along a gradient of forest anthropization (reserves, managed forests, urban parks) in France. *ARPHA Preprints*, 3, e95662. <https://doi.org/10.3897/ARPHAPREPRINTS.E95662>
- Quéré, J.-P., & Louarn, H. Le. (2011). *Les rongeurs de France. Faunistique et biologie*. Editions Quae. <https://hal.inrae.fr/hal-02810235>
- Raileanu, C., Moutailler, S., Pavel, I., Porea, D., Mihalca, A. D., Savuta, G., & Vayssier-Taussat, M. (2017). Borrelia diversity and co-infection with other tick borne pathogens in ticks. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7(FEB), 244580. <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2017.00036/BIBTEX>
- Rajora, O. P. (1999). Genetic biodiversity impacts of silvicultural practices and phenotypic selection in white spruce. *Theoretical and Applied Genetics*, 99(6), 954–961. <https://doi.org/10.1007/S001220051402/METRICS>

- Randolph, S. E., & Dobson, A. D. M. (2012). Pangloss revisited: a critique of the dilution effect and the biodiversity-buffers-disease paradigm. *Parasitology*, *139*(7), 847–863. <https://doi.org/10.1017/S0031182012000200>
- Ribas, M. P., García-Ulloa, M., Espunyes, J., & Cabezón, O. (2023). Improving the assessment of ecosystem and wildlife health: microbiome as an early indicator. *Current Opinion in Biotechnology*, *81*, 102923. <https://doi.org/10.1016/J.COPBIO.2023.102923>
- Roberts, M. G., & Heesterbeek, J. A. P. (2018). Quantifying the dilution effect for models in ecological epidemiology. *Journal of The Royal Society Interface*, *15*(140). <https://doi.org/10.1098/RSIF.2017.0791>
- Roche, B., Dobson, A. P., Guégan, J. F., & Rohani, P. (2012). Linking community and disease ecology: The impact of biodiversity on pathogen transmission. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *367*(1604), 2807–2813. <https://doi.org/10.1098/rstb.2011.0364>
- Rodriguez de Rivera, O., & McCrea, R. (2021). Removal modelling in ecology: A systematic review. *PLOS ONE*, *16*(3), e0229965. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0229965>
- Rohr, J. R., Civitello, D. J., Halliday, F. W., Hudson, P. J., Lafferty, K. D., Wood, C. L., & Mordecai, E. A. (2020). Towards common ground in the biodiversity–disease debate. *Nature Ecology and Evolution*, *4*(1), 24–33. <https://doi.org/10.1038/s41559-019-1060-6>
- Roser, M., Ritchie, H., & Spooner, F. (2021). Burden of disease. *Our World in Data*. <https://ourworldindata.org/burden-of-disease>
- Rowland, I., Gibson, G., Heinken, A., Scott, K., Swann, J., Thiele, I., & Tuohy, K. (2017). Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. *European Journal of Nutrition* *2017 57:1*, *57*(1), 1–24. <https://doi.org/10.1007/S00394-017-1445-8>
- Rueda-Robles, A., Rodríguez-Lara, A., Meyers, M. S., Sáez-Lara, M. J., & Álvarez-Mercado, A. I. (2022). Effect of Probiotics on Host-Microbiota in Bacterial Infections. *Pathogens*, *11*(9). <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS11090986>
- Šálek, M., Drahníková, L., & Tkadlec, E. (2015). Changes in home range sizes and population densities of carnivore species along the natural to urban habitat gradient. *Mammal*

*Review*, 45(1), 1–14. <https://doi.org/10.1111/MAM.12027/SUPPINFO>

- Salgado, R., Barja, I., Hernández, M. del C., Lucero, B., Castro-Arellano, I., Bonacic, C., & Rubio, A. V. (2022). Activity patterns and interactions of rodents in an assemblage composed by native species and the introduced black rat: implications for pathogen transmission. *BMC Zoology*, 7(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/S40850-022-00152-7/TABLES/6>
- Salkeld, D. J., Padgett, K. A., & Jones, J. H. (2013). A meta-analysis suggesting that the relationship between biodiversity and risk of zoonotic pathogen transmission is idiosyncratic. *Ecology Letters*, 16(5), 679–686. <https://doi.org/10.1111/ele.12101>
- Sambri, V., Capobianchi, M., Charrel, R., Fyodorova, M., Gaibani, P., Gould, E., Niedrig, M., Papa, A., Pierro, A., Rossini, G., Varani, S., Vocale, C., & Landini, M. P. (2013). West Nile virus in Europe: emergence, epidemiology, diagnosis, treatment, and prevention. *Clinical Microbiology and Infection : The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 19(8), 699–704. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12211>
- Santini, L., González-Suárez, M., Russo, D., Gonzalez-Voyer, A., von Hardenberg, A., & Ancillotto, L. (2019). One strategy does not fit all: determinants of urban adaptation in mammals. *Ecology Letters*, 22(2), 365–376. <https://doi.org/10.1111/ELE.13199>
- Santoro, A., Ostan, R., Candela, M., Biagi, E., Brigidi, P., Capri, M., & Franceschi, C. (2017). Gut microbiota changes in the extreme decades of human life: a focus on centenarians. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2017 75:1, 75(1), 129–148. <https://doi.org/10.1007/S00018-017-2674-Y>
- Schell, C. J., Stanton, L. A., Young, J. K., Angeloni, L. M., Lambert, J. E., Breck, S. W., & Murray, M. H. (2021). The evolutionary consequences of human–wildlife conflict in cities. *Evolutionary Applications*, 14(1), 178–197. <https://doi.org/10.1111/EVA.13131>
- Schipper, J., Chanson, J. S., Chiozza, F., Cox, N. A., Hoffmann, M., Katariya, V., Lamoreux, J., Rodrigues, A. S. L., Stuart, S. N., Temple, H. J., Baillie, J., Boitani, L., Lacher, T. E., Mittermeier, R. A., Smith, A. T., Absolon, D., Aguiar, J. M., Amori, G., Bakkour, N., ... Young, B. E. (2008). The status of the world's land and marine mammals: diversity, threat, and knowledge. *Science*, 322(5899), 225–230. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1165115>

- Schmid, D. W., Fackelmann, G., Wasimuddin, Rakotondranary, J., Ratovonamana, Y. R., Montero, B. K., Ganzhorn, J. U., & Sommer, S. (2022). A framework for testing the impact of co-infections on host gut microbiomes. *Animal Microbiome* 2022 4:1, 4(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/S42523-022-00198-5>
- Schwensow, N. I., Heni, A. C., Schmid, J., Montero, B. K., Brändel, S. D., Halczok, T. K., Mayer, G., Fackelmann, G., Wilhelm, K., Schmid, D. W., & Sommer, S. (2022). Disentangling direct from indirect effects of habitat disturbance on multiple components of biodiversity. *Journal of Animal Ecology*, 91(11), 2220–2234. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.13802>
- Semeraro, T., Scarano, A., Buccolieri, R., Santino, A., & Aarrevaara, E. (2021). Planning of Urban Green Spaces: An Ecological Perspective on Human Benefits. *Land* 2021, Vol. 10, Page 105, 10(2), 105. <https://doi.org/10.3390/LAND10020105>
- Sender, R., Fuchs, S., & Milo, R. (2016). Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biology*, 14(8). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PBIO.1002533>
- Shade, A. (2016). Diversity is the question, not the answer. *The ISME Journal* 2017 11:1, 11(1), 1–6. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.118>
- Shanbehzadeh, M., Nopour, R., & Kazemi-Arpanahi, H. (2022). Designing a standardized framework for data integration between zoonotic diseases systems: Towards one health surveillance. *Informatics in Medicine Unlocked*, 30, 100893. <https://doi.org/10.1016/J.IMU.2022.100893>
- Shapira, M. (2016). Gut Microbiotas and Host Evolution: Scaling Up Symbiosis. *Trends in Ecology & Evolution*, 31(7), 539–549. <https://doi.org/10.1016/J.TREE.2016.03.006>
- Sheil, D., & Burslem, D. F. R. P. (2013). Defining and defending Connell’s intermediate disturbance hypothesis: a response to Fox. *Trends in Ecology & Evolution*, 28(10), 571–572. <https://doi.org/10.1016/J.TREE.2013.07.006>
- Sih, A., Spiegel, O., Godfrey, S., Leu, S., & Bull, C. M. (2018). Integrating social networks, animal personalities, movement ecology and parasites: a framework with examples from a lizard. *Animal Behaviour*, 136, 195–205. <https://doi.org/10.1016/J.ANBEHAV.2017.09.008>

- Silk, M. J., & Fefferman, N. H. (2021). The role of social structure and dynamics in the maintenance of endemic disease. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 2021 75:8, 75(8), 1–16. <https://doi.org/10.1007/S00265-021-03055-8>
- SILVESTRE, S. (n.d.). *Le Parc en quelques chiffres*. Retrieved July 11, 2023, from <https://www.leprogres.fr/actualite/2017/07/30/point-par-point>
- Simon, J. C., Marchesi, J. R., Mougel, C., & Selosse, M. A. (2019). Host-microbiota interactions: From holobiont theory to analysis. *Microbiome*. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0619-4>
- Singleton, G. R., Hinds, L. A., Leirs, H., & Zhang, Z. (1999). *ECOLOGICALLY V-BASED MANAGEMENT OF RODENT PESTS*.
- Smith, K. F., Goldberg, M., Rosenthal, S., Carlson, L., Chen, J., Chen, C., & Ramachandran, S. (2014). *Global rise in human infectious disease outbreaks*. <https://doi.org/10.1098/rsif.2014.0950>
- Smith, K. M., Machalaba, C. C., Seifman, R., Feferholtz, Y., & Karesh, W. B. (2019). Infectious disease and economics: The case for considering multi-sectoral impacts. *One Health*, 7, 100080. <https://doi.org/10.1016/J.ONEHLT.2018.100080>
- Sofonea, M. T., Cauchemez, S., & Boëlle, P. Y. (2022). Epidemic models: why and how to use them. *Anaesthesia, Critical Care & Pain Medicine*, 41(2), 101048. <https://doi.org/10.1016/J.ACCPM.2022.101048>
- Sonnenburg, J. L., & Sonnenburg, E. D. (2019). Vulnerability of the industrialized microbiota. *Science*, 366(6464). [https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAW9255/ASSET/698B3EE4-7BB6-4B68-9600-299710FA3189/ASSETS/GRAPHIC/366\\_AAW9255\\_FA.JPEG](https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAW9255/ASSET/698B3EE4-7BB6-4B68-9600-299710FA3189/ASSETS/GRAPHIC/366_AAW9255_FA.JPEG)
- Špitalská, E., Minichová, L., Kocianová, E., Škultéty, Ľ., Mahríková, L., Hamšíková, Z., Slovák, M., & Kazimírová, M. (2017). Diversity and prevalence of Bartonella species in small mammals from Slovakia, Central Europe. *Parasitology Research*, 116(11), 3087–3095. <https://doi.org/10.1007/S00436-017-5620-X/METRICS>
- Steere, A. C., Coburn, J., & Glickstein, L. (2004). The emergence of Lyme disease. *Journal of Clinical Investigation*, 113(8), 1093. <https://doi.org/10.1172/JCI21681>



- Stegen, J. C., Lin, X., Fredrickson, J. K., Chen, X., Kennedy, D. W., Murray, C. J., Rockhold, M. L., & Konopka, A. (2013). Quantifying community assembly processes and identifying features that impose them. *The ISME Journal* 2013 7:11, 7(11), 2069–2079. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.93>
- Stephenson, P. J., Londoño-Murcia, M. C., Borges, P. A. V., Claassens, L., Frisch-Nwakanma, H., Ling, N., McMullan-Fisher, S., Meeuwig, J. J., Unter, K. M. M., Walls, J. L., Burfield, I. J., do Carmo Vieira Correa, D., Geller, G. N., Montenegro Paredes, I., Mubalama, L. K., Ntiamoa-Baidu, Y., Roesler, I., Rovero, F., Sharma, Y. P., ... Fumagalli, L. (2022). Measuring the Impact of Conservation: The Growing Importance of Monitoring Fauna, Flora and Funga. *Diversity* 2022, Vol. 14, Page 824, 14(10), 824. <https://doi.org/10.3390/D14100824>
- Sterck, O., Roser, M., Ncube, M., & Thewissen, S. (2018). Allocation of development assistance for health: is the predominance of national income justified? *Health Policy and Planning*, 33(suppl\_1), i14–i23. <https://doi.org/10.1093/HEAPOL/CZW173>
- Stevens, B. M., Creed, T. B., Reardon, C. L., & Manter, D. K. (2023). Comparison of Oxford Nanopore Technologies and Illumina MiSeq sequencing with mock communities and agricultural soil. *Scientific Reports* 2023 13:1, 13(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-36101-8>
- Stoddard, R. A., Gee, J. E., Wilkins, P. P., McCaustland, K., & Hoffmaster, A. R. (2009). Detection of pathogenic *Leptospira* spp. through TaqMan polymerase chain reaction targeting the LipL32 gene. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 64(3), 247–255. <https://doi.org/10.1016/J.DIAGMICROBIO.2009.03.014>
- Sun, X., Liddicoat, C., Tiunov, A., Wang, B., Zhang, Y., Lu, C., Li, Z., Scheu, S., Breed, M. F., Geisen, S., & Zhu, Y.-G. (2023). Harnessing soil biodiversity to promote human health in cities. *Npj Urban Sustainability* 2023 3:1, 3(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s42949-023-00086-0>
- Suzuki, T. A. (2017). Links between Natural Variation in the Microbiome and Host Fitness in Wild Mammals. *Integrative and Comparative Biology*, 57(4), 756–769. <https://doi.org/10.1093/ICB/ICX104>
- Swaddle, J. P., & Calos, S. E. (2008). Increased avian diversity is associated with lower incidence of human West Nile infection: Observation of the dilution effect. *PLoS ONE*.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002488>

- Taubenberger, J. K., & Kash, J. C. (2010). Influenza virus evolution, host adaptation, and pandemic formation. *Cell Host & Microbe*, 7(6), 440–451. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2010.05.009>
- Telfer, S., Lambin, X., Birtles, R., Beldomenico, P., Burthe, S., Paterson, S., & Begon, M. (2010). Species interactions in a parasite community drive infection risk in a wildlife population. *Science*, 330(6001), 243–246. <https://doi.org/10.1126/science.1190333>
- Titcomb, G. C., Jerde, C. L., & Young, H. S. (2019). High-throughput sequencing for understanding the ecology of emerging infectious diseases at the wildlife-human interface. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 7(MAR), 422606. <https://doi.org/10.3389/FEVO.2019.00126/BIBTEX>
- Toma, B., & Thiry, E. (2003). *QU'EST CE QU'UNE MALADIE EMERGENTE ?\**. 44, 1–11.
- Torre, I., Jaime-González, C., & Díaz, M. (2022). Habitat Suitability for Small Mammals in Mediterranean Landscapes: How and Why Shrubs Matter. *Sustainability (Switzerland)*, 14(3), 1562. <https://doi.org/10.3390/SU14031562/S1>
- Trinh, P., Zaneveld, J. R., Safranek, S., & Rabinowitz, P. M. (2018). One Health Relationships Between Human, Animal, and Environmental Microbiomes: A Mini-Review. *Frontiers in Public Health*, 6, 385281. <https://doi.org/10.3389/FPUBH.2018.00235/BIBTEX>
- Vayssier-Taussat, M., Albina, E., Citti, C., Cosson, J. F., Jacques, M. A., Lebrun, M. H., Le Loir, Y., Ogliastro, M., Petit, M. A., Roumagnac, P., & Candresse, T. (2014). Shifting the paradigm from pathogens to pathobiome new concepts in the light of meta-omics. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 5(MAR), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00029>
- Voolstra, C. R., & Ziegler, M. (2020). Adapting with Microbial Help: Microbiome Flexibility Facilitates Rapid Responses to Environmental Change. *BioEssays*, 42(7), 2000004. <https://doi.org/10.1002/BIES.202000004>
- Vourc'h, G., Moutou, F., Morand, S., & Jourdain, E. (2021). Les zoonoses. *Louvain Medical*, 120(2), 172. <https://doi.org/10.35690/978-2-7592-3271-0>

- Walker, T., Johnson, P. H., Moreira, L. A., Iturbe-Ormaetxe, I., Frentiu, F. D., McMeniman, C. J., Leong, Y. S., Dong, Y., Axford, J., Kriesner, P., Lloyd, A. L., Ritchie, S. A., O'Neill, S. L., & Hoffmann, A. A. (2011). The wMel Wolbachia strain blocks dengue and invades caged *Aedes aegypti* populations. *Nature*, *476*(7361), 450–455. <https://doi.org/10.1038/nature10355>
- Walker, Thomas, & Moreira, L. A. (2011). Can Wolbachia be used to control malaria? *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, *106*(SUPPL. 1), 212–217. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762011000900026>
- Wang, J., Linnenbrink, M., Künzel, S., Fernandes, R., Nadeau, M.-J., Rosenstiel, P., Baines, J. F., & McDonald, E. (2014). *Dietary history contributes to enterotype-like clustering and functional metagenomic content in the intestinal microbiome of wild mice.* <https://doi.org/10.1073/pnas.1402342111>
- Wardeh, M., Sharkey, K. J., & Baylis, M. (2020). Integration of shared-pathogen networks and machine learning reveals the key aspects of zoonoses and predicts mammalian reservoirs. *Proceedings of the Royal Society B*, *287*(1920). <https://doi.org/10.1098/RSPB.2019.2882>
- Weinstein, S. B., Martinez-Mota, R., Stapleton, T. E., Klure, D. M., Greenhalgh, R., Orr, T. J., Dale, C., Kohl, K. D., & Denise Dearing, M. (2021). Microbiome stability and structure is governed by host phylogeny over diet and geography in woodrats (*Neotoma* spp.). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *118*(47). <https://doi.org/10.1073/PNAS.2108787118/-/DCSUPPLEMENTAL>
- Weiss, R. A., & McMichael, A. J. (2004). Social and environmental risk factors in the emergence of infectious diseases. *Nature Medicine* *2004* *10:12*, *10*(12), S70–S76. <https://doi.org/10.1038/nm1150>
- Werner, C. S., & Nunn, C. L. (2020). Effect of urban habitat use on parasitism in mammals: a meta-analysis. *Proceedings of the Royal Society B*, *287*(1927). <https://doi.org/10.1098/RSPB.2020.0397>
- West, A. G., Waite, D. W., Deines, P., Bourne, D. G., Digby, A., McKenzie, V. J., & Taylor, M. W. (2019). The microbiome in threatened species conservation. *Biological Conservation*, *229*, 85–98. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCON.2018.11.016>

- West, S. A., & Buckling, A. (2003). Cooperation, virulence and siderophore production in bacterial parasites. *Proceedings. Biological Sciences*, 270(1510), 37–44. <https://doi.org/10.1098/RSPB.2002.2209>
- White, R., & Razgour, O. (2020). Emerging zoonotic diseases originating in mammals: a systematic review of effects of anthropogenic land-use change. *Mammal Review*, 50(4), 336–352. <https://doi.org/10.1111/MAM.12201>
- Wiens, J. J., Ackerly, D. D., Allen, A. P., Anacker, B. L., Buckley, L. B., Cornell, H. V., Damschen, E. I., Jonathan Davies, T., Grytnes, J. A., Harrison, S. P., Hawkins, B. A., Holt, R. D., McCain, C. M., & Stephens, P. R. (2010). Niche conservatism as an emerging principle in ecology and conservation biology. *Ecology Letters*, 13(10), 1310–1324. <https://doi.org/10.1111/J.1461-0248.2010.01515.X>
- Wilkins, L. J., Monga, M., & Miller, A. W. (2019). Defining Dysbiosis for a Cluster of Chronic Diseases. *Scientific Reports 2019 9:1*, 9(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49452-y>
- Williams, W. B., Liao, H. X., Moody, M. A., Kepler, T. B., Alam, S. M., Gao, F., Wiehe, K., Trama, A. M., Jones, K., Zhang, R., Song, H., Marshall, D. J., Whitesides, J. F., Sawatzki, K., Hua, A., Liu, P., Tay, M. Z., Seaton, K. E., Shen, X., ... Haynes, B. F. (2015). HIV-1 VACCINES. Diversion of HIV-1 vaccine-induced immunity by gp41-microbiota cross-reactive antibodies. *Science (New York, N.Y.)*, 349(6249). <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAB1253>
- Wilman, H., Belmaker, J., Simpson, J., De, C., Rosa, L. A., Rivadeneira, M. M., & Jetz, W. (2014). EltonTraits 1.0: Species-level foraging attributes of the world's birds and mammals. *Ecology*, 95(7), 2027–2027. <https://doi.org/10.1890/13-1917.1>
- Wint, W., Morley, D., & Alexander, N. S. (2013). Four Rodent and Vole Biodiversity Models for Europe. *Journal of Open Public Health Data*, 1(1), e3. <https://doi.org/10.5334/JOPHD.AC>
- Withenshaw, S. M., Devevey, G., Pedersen, A. B., & Fenton, A. (2016). Multihost Bartonella parasites display covert host specificity even when transmitted by generalist vectors. *Journal of Animal Ecology*, 85(6), 1442–1452. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12568>
- Witmer, G. (2019). The changing role of rodenticides and their alternatives in the management of commensal rodents. *USDA Wildlife Services - Staff Publications*.

[https://digitalcommons.unl.edu/icwdm\\_usdanwrc/2291](https://digitalcommons.unl.edu/icwdm_usdanwrc/2291)

Wood, C. L., & Lafferty, K. D. (2013). Biodiversity and disease: a synthesis of ecological perspectives on Lyme disease transmission. *Trends in Ecology & Evolution*, *28*(4), 239–247. <https://doi.org/10.1016/J.TREE.2012.10.011>

Wood, C. L., Lafferty, K. D., DeLeo, G., Young, H. S., Hudson, P. J., & Kuris, A. M. (2014). Does biodiversity protect humans against infectious disease? *Ecology*, *95*(4), 817–832. <https://doi.org/10.1890/13-1041.1>

Xiang, Z., Tong, W., Guo, Z., Xu, Y., Guo, J., Ruan, Y., & Zhao, P. (2019). Rat H1 parvovirus infection leads to alterations in gut microbiota. *Pathogens and Disease*, *77*(5), 58. <https://doi.org/10.1093/FEMSPD/FTZ058>

Yang, X., Noyes, N. R., Doster, E., Martin, J. N., Linke, L. M., Magnuson, R. J., Yang, H., Geornaras, I., Woerner, D. R., Jones, K. L., Ruiz, J., Boucher, C., Morley, P. S., & Belk, K. E. (2016). Use of metagenomic shotgun sequencing technology to detect foodborne pathogens within the microbiome of the beef production chain. *Applied and Environmental Microbiology*, *82*(8), 2433–2443. [https://doi.org/10.1128/AEM.00078-16/SUPPL\\_FILE/ZAM999117077SD1.XLSX](https://doi.org/10.1128/AEM.00078-16/SUPPL_FILE/ZAM999117077SD1.XLSX)

Yates, T. L., MILLS, J. N., PARMENTER, C. A., KSIAZEK, T. G., PARMENTER, R. R., VANDE CASTLE, J. R., CALISHER, C. H., NICHOL, S. T., ABBOTT, K. D., YOUNG, J. C., MORRISON, M. L., BEATY, B. J., DUNNUM, J. L., BAKER, R. J., SALAZAR-BRAVO, J., & PETERS, C. J. (2002). The Ecology and Evolutionary History of an Emergent Disease: Hantavirus Pulmonary Syndrome. *BioScience*, *52*(11), 989. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2002\)052\[0989:teaeho\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2002)052[0989:teaeho]2.0.co;2)

Zaheer, A. B., Ali, T., Ashfaq, A., & Jabeen, A. (2022). Monkeypox outbreak amidst COVID-19 reemergence in the European Region: Challenges, efforts, and recommendations. *Annals of Medicine and Surgery*, *82*, 104657. <https://doi.org/10.1016/J.AMSU.2022.104657>

Zaneveld, J., McMinds, R., & Vega Thurber, R. (2017). Stress and stability: applying the Anna Karenina principle to animal microbiomes. *Nature Microbiology*, *2*. <https://doi.org/10.1038/NMICROBIOL.2017.121>

Zhou, J., & Ning, D. (2017). Stochastic Community Assembly: Does It Matter in Microbial

Ecology? *Microbiology and Molecular Biology Reviews*: *MMBR*, 81(4).  
<https://doi.org/10.1128/MMBR.00002-17>

Zunino, P. (2022). Zunino P (2022) Native microbiomes in danger: Could One Health help to cope with this threat to global health? *International Journal of One Health Available at Wwww.Onehealthjournal.Org*, 8(2), 178–184. <https://doi.org/10.14202/IJOH.2022.178-184>

## Abstract

The increase in the emergence of zoonoses due to human activities is prompting us to refocus infectious diseases at the center of global concerns, by adopting a "One Health" approach. The integration of community ecology with epidemiology enables us to take into account all the ecological processes that influence both multiple hosts and multiple micro-organisms. By exploring the relationships between the latter in the transmission of zoonotic diseases, we could open up new perspectives for better prevention of zoonotic danger. Given the zoonotic risk posed by small mammals and the threat to their diversity posed by anthropization, we need to find new ways of managing these communities to limit the circulation of pathogens. In the long term, this would make it possible to establish strategies that benefit both biodiversity and health.

The aims of this thesis were to understand the complex links between small mammal biodiversity, their microbiota and pathogens along an anthropization gradient. This included: i) monitoring the zoonotic hazard associated with small mammals in France, ii) understanding the links between small mammal biodiversity and the prevalence of multiple pathogens, in different environmental and management contexts, iii) examining the relationship between small mammal biodiversity and their microbiota, iv) analyzing the interactions between microbiota and pathogens.

To this end, we sampled small mammal communities along a forest anthropization gradient, then performed serological and molecular analyses to detect and characterize zoonotic agents and gut microbiota. We then carried out statistical analyses and epidemiological modelling to understand the associations between zoonotic pathogens and microbiota, and their impact on the link between biodiversity and zoonotic danger.

Along a gradient of anthropization, we have identified the presence of multiple pathogens in various rodent species, representing a real risk to public health. Anthropization has altered the composition and diversity of small mammal communities, as well as their microbiota. These changes have affected the relationship between biodiversity and pathogens. We found that unbalanced small mammal communities, with a higher abundance of competent species, were associated with an increased prevalence of pathogens. However, community management strategies such as deratting could have a counter-intuitive impact by reducing small mammal diversity and increasing pathogen circulation.

The ecological mechanisms underlying microbiota composition varied according to species type, and seemed to play a crucial role in their resistance to anthropogenic disturbance. Furthermore, interactions between pathogenic and commensal microorganisms suggest that a host's susceptibility to a pathogen may be linked to the composition of its microbiota. With these results, new hypotheses emerge concerning the role of the microbiota in the competence of the host species and its susceptibility to pathogens.

Thus, disturbances induced by various anthropogenic pressures can cause an imbalance in communities, which can alter the overall interactions between multiple hosts and micro-organisms, and consequently increase the circulation of pathogens. This underscores the importance of exploring new methods and approaches for a better understanding of these complex relationships between biodiversity, microbiota and public health, in particular by applying an integrated health approach.

**Keywords :** Zoonoses • Anthropization • Small mammals • Dilution effect • Community ecology • Microbiota • Multi-pathogens • Multi-hosts

## Résumé

L'augmentation de l'émergence des zoonoses due aux activités humaines nous pousse à recentrer les maladies infectieuses au centre des préoccupations mondiales, en adoptant une approche "One Health". L'intégration de l'écologie des communautés à l'épidémiologie nous permet de prendre en compte tous les processus écologiques qui influencent à la fois les multiples hôtes et les multiples micro-organismes. En explorant les relations entre ces derniers dans la transmission des maladies zoonotiques, nous pourrions ouvrir de nouvelles perspectives pour une meilleure prévention du danger zoonotique. Compte tenu du risque zoonotique que les petits mammifères représentent et la menace que l'anthropisation encoure sur leur diversité, il convient de trouver de nouvelles méthodes de gestion de ces communautés permettant de limiter la circulation des pathogènes. À terme, cela permettrait d'établir des stratégies bénéfiques tant pour la biodiversité que pour la santé.

Les objectifs de cette thèse étaient de comprendre les liens complexes entre la biodiversité des petits mammifères, leur microbiote et les pathogènes le long d'un gradient d'anthropisation. Cela incluait : i) la surveillance du danger zoonotique associé aux petits mammifères en France, ii) la compréhension des liens entre la biodiversité des petits mammifères et la prévalence de multiples pathogènes, dans des contextes différents d'environnement et de gestion iii) l'examen de la relation entre la biodiversité des petits mammifères et leur microbiote, iv) l'analyse des interactions entre le microbiote et les pathogènes

Pour cela, nous avons échantillonné des communautés de petits mammifères le long d'un gradient d'anthropisation forestier, puis effectué des analyses sérologiques et moléculaires pour détecter et caractériser les agents zoonotiques et le microbiote intestinal. Nous avons ensuite effectué des analyses statistiques et des modélisations épidémiologiques pour comprendre les associations entre les pathogènes zoonotiques et le microbiote, ainsi que leur impact sur le lien entre biodiversité et danger zoonotique.

Le long d'un gradient d'anthropisation, nous avons identifié la présence de multiples pathogènes chez diverses espèces de rongeurs, représentant un réel risque pour la santé publique. L'anthropisation a modifié la composition et la diversité des communautés de petits mammifères, ainsi que leur microbiote. Ces changements ont affecté les relations entre biodiversité et pathogènes. Nous avons constaté que des communautés déséquilibrées de petits mammifères, avec une plus grande abondance d'espèces compétentes, étaient associées à une prévalence accrue de pathogènes. Cependant les stratégies de gestions des communautés comme la dératisation pouvaient avoir un impact contre intuitif en réduisant la diversité des petits mammifères et en augmentant la circulation du pathogène.

Les mécanismes écologiques sous-jacents à la composition du microbiote variaient selon le type d'espèces, et ils semblaient jouer un rôle crucial dans leur résistance aux perturbations anthropiques. En outre, les interactions entre les micro-organismes pathogènes et commensaux suggèrent que la sensibilité d'un hôte à un pathogène pourrait être liée à la composition de son microbiote. Avec ces résultats, de nouvelles hypothèses émergent concernant le rôle du microbiote dans la compétence de l'espèce hôte et sa sensibilité aux pathogènes.

Ainsi des perturbations induites par diverses pressions anthropiques peuvent provoquer un déséquilibre dans les communautés, ce qui peut altérer l'ensemble des interactions entre les hôtes multiples, les micro-organismes et, par conséquent, augmenter la circulation de pathogènes. Cela montrent l'importance d'explorer de nouvelles méthodes et approches pour une meilleure compréhension de ces relations complexes entre la biodiversité, le microbiote et la santé publique, notamment en appliquant une approche intégrée de la santé.

**Mots clés :** Zoonoses • Anthropisation • Petits mammifères • Effet dilution • Ecologie des communautés • Microbiote • Multi-pathogènes • Multi-hôtes