

Premier comité de suivi individuel de thèse : Rapport détaillé du projet de thèse

18 avril 2024

# **Influence du paysage sur la circulation des agents pathogènes portés par les rongeurs de la forêt des Landes de Gascogne**

Aloïs BERARD

Thèse encadrée sous la direction de : **Nathalie Charbonnel**

Laboratoire : **Centre de Biologie pour la Gestion des Populations (CBGP)**

Laboratoire partenaire : **UMR Biodiversité Gènes et Communautés (BIOGECO)**

I.	Table des matières	
A.	Préambule.....	2
II.	Projet de thèse et avancées .....	2
A.	Contexte scientifique global.....	2
B.	Premier axe : Influence du paysage sur la biodiversité des petits mammifères .....	5
1.	Introduction .....	5
2.	Matériel et méthodes .....	6
3.	Résultats préliminaires .....	8
4.	Discussion.....	10
5.	Perspectives .....	11
C.	Deuxième axe : Impact du paysage sur la diversité et la prévalence des agents pathogènes de rongeurs 12	
1.	Introduction .....	12
2.	Matériel et méthodes .....	14
3.	Résultats préliminaires .....	16
4.	Discussion.....	20
5.	Perspectives .....	22
D.	Troisième axe : Caractérisation des traits de vie et de leurs relations avec les agents pathogènes et le paysage.....	22
1.	Introduction .....	22
2.	Approches développées .....	24
3.	Approches expérimentales supplémentaires envisagées .....	26
E.	Quatrième axe : Exploration de méthodes de suivi non-perturbantes .....	27
1.	Introduction .....	27
2.	Approches envisagées .....	29
III.	Activités accomplies et planifiées .....	30
A.	Formations et expériences .....	30
1.	Modules scientifiques (45h) .....	30
2.	Modules transversaux (généraux et professionnels, 45h).....	30
3.	Séminaires et conférences .....	30
4.	Autres expériences.....	31
B.	Chronogramme prévisionnel .....	31
IV.	Bibliographie .....	31

## A. Préambule

Alors que le projet de thèse était initialement centré sur l'impact de la restauration écologique sur la biodiversité, la première année d'échantillonnage nous a progressivement amenés à reconsidérer notre cadre d'étude originel. Nous avons réalisé que les haies échantillonnées ne peuvent pas être considérées comme un exemple formel de restauration, car elles n'ont pas été plantées dans un but de restauration, mais dans une optique fonctionnelle. Nous avons donc détourné notre attention de la restauration écologique pour nous concentrer sur le paysage et l'impact des haies et des îlots de feuillus sur la biodiversité et la circulation des pathogènes dans la pinède des Landes. Ce travail pourrait toutefois être utile à l'avenir dans ce cadre de restauration, compte tenu des projets de plantation de haies existants dans cette pinède au travers du projet européen SUPERB.

Ces ajustements ainsi que l'approche imminente de la prochaine campagne d'échantillonnage (juin 2024) nous ont incités à solliciter ce comité de suivi plus tôt que prévu. La mise en place d'un comité intermédiaire entre celui-ci et celui de la deuxième année est envisagée pour permettre une discussion plus approfondie des résultats de la première année de thèse et des orientations choisies.

## II. Projet de thèse et avancées

### A. Contexte scientifique global

Les menaces globales posées par l'émergence de maladies infectieuses et les altérations de la biodiversité sont intrinsèquement liées. Alors que le nombre d'émergences de ces maladies est en constante augmentation depuis les années 1980 (Smith et al. 2014), 60% d'entre elles ont une origine animale (*syn.* zoonoses et anthroozoonoses) et parmi elles la plupart (70%) proviennent directement de la faune sauvage (Jones et al. 2008). Les pressions anthropiques exercées sur l'environnement, notamment la déforestation, l'exploitation intensive ou l'urbanisation, ont un impact majeur sur la biodiversité et les contacts entretenus entre populations humaines et faune sauvage (Allen et al. 2017). Ces changements d'usage des terres sont ainsi largement mis en cause dans l'augmentation de la circulation de certains agents pathogènes (Gottdenker et al. 2014).

En effet, l'usage des terres, quelles que soient ses formes, détermine la structuration et la composition locales des paysages. Ces transformations paysagères induites par l'activité humaine influencent directement la quantité, la qualité et le degré de fragmentation des habitats favorables à la biodiversité. Ces phénomènes, par une cascade d'événements, vont être responsables d'une modification du danger zoonotique (*c.-à-d* l'intensité de la circulation d'agents pathogènes dans la faune). Les détériorations du paysage par l'humain peuvent notamment favoriser le danger zoonotique via i) la perte de biodiversité en faveur d'espèces hôtes compétentes pour les agents zoonotiques (*c.-à-d* capables de s'infecter, de conserver l'agent et de le transmettre), ii) l'altération de la compétence des individus par une détérioration de leur condition et iii) la modification des conditions abiotiques potentiellement en faveur des populations de vecteurs et de parasites (Brearley et al. 2013).

i) L'impact global de l'activité humaine et des changements de paysage qui en résultent est généralement négatif pour la diversité des espèces (Newbold et al. 2015), privilégiant certaines au détriment des autres (McKinney et Lockwood 1999; Gámez-Virués et al. 2015). Parmi celles-ci, les espèces dites « généralistes » se distinguent par leur plasticité écologique remarquable, leur permettant de coloniser des habitats allant du milieu naturel préservé au milieu fortement perturbé. Leurs caractéristiques biologiques, telles qu'une histoire de vie rapide, contribuent à cette capacité d'adaptation (Keinath et al. 2017). Toutefois, potentiellement du fait des compromis entretenus entre reproduction, vitesse de développement et protection contre les agents pathogènes (Johnson et al. 2012), ces mêmes caractéristiques sont aussi corrélées à un fort niveau de compétence pour de nombreux agents, dont les pathogènes zoonotiques. Une méta-analyse récente suggère ainsi que les espèces hôtes d'agents pathogènes ont, de manière générale, une capacité supérieure à survivre, voire à prospérer, dans les milieux perturbés par les activités humaines (Gibb et al. 2020). Cette situation peut ainsi conduire à des augmentations locales de la proportion en hôtes compétents réduisant les avantages liés à l'effet de dilution qui postule qu'une grande diversité d'espèces hôtes tend à limiter la transmission d'un agent pathogène (Keesing,

Holt, et Ostfeld 2006). Ce concept décrit en effet que les communautés présentant une plus grande diversité peuvent comprendre des hôtes moins compétents pour certains pathogènes, ce qui peut amener à une réduction du taux de contacts infectieux dans l'ensemble et entraîner une diminution de la prévalence. En outre, dans les environnements riches en biodiversité, les interactions écologiques interspécifiques sont favorisées. La prédation et la compétition conséquentes peuvent alors restreindre la densité des espèces compétentes, limitant ainsi la transmission (Khalil et al. 2016).

ii) Les variations de compétence entre espèces et au sein même des espèces sont liées à des facteurs biotiques et abiotiques. Le paysage peut contribuer à influencer la compétence des individus par une altération de leur intégrité fonctionnelle. La perte et la fragmentation des habitats peuvent par exemple réduire la disponibilité en ressources et altérer l'état nutritionnel. Du fait des compromis physiologiques d'allocation entre traits, un individu sous ou mal-alimenté peut alors ne pas être en mesure de maintenir un certain nombre de fonctions essentielles à des niveaux optimaux. Le maintien du système immunitaire et la réponse aux infections sont notamment coûteux d'un point de vue énergétique et nutritionnel (Lochmiller et Deerenberg 2000; Moret et Schmid-Hempel 2000). Chez les mammifères, un état avancé de sous-nutrition lié à des carences ou à une restriction alimentaire peut ainsi entraîner des effets négatifs sur certaines fonctions immunitaires (Calder et Jackson 2000; Strandin, Babayan, et Forbes 2018).

Une dégradation des paysages peut donc engendrer une modification de la condition physique susceptible d'altérer la compétence des individus (Acevedo-Whitehouse et Duffus 2009). Cette altération peut être liée à une modification de la sensibilité (*c.-à-d* la probabilité d'être infecté à la suite d'une exposition) ou de la contagiosité (*c.-à-d* la probabilité d'exposer les autres) des individus. Il a notamment été montré qu'une alimentation supplémentée pouvait entraîner une diminution de la charge parasitaire et de l'excrétion de parasites dans la faune sauvage et de laboratoire (Sweeny et al. 2021). En outre, une altération de la capacité d'un individu à se protéger contre les infections accroît le risque d'être infecté, ce qui peut conduire à une détérioration de son état de santé, entretenant ainsi un cercle vicieux (Beldomenico et al. 2008).

L'impact du paysage sur la compétence des hôtes ne se limite pas seulement à l'accès aux ressources. La composition du paysage est également susceptible de perturber les communautés de microorganismes commensales de l'hôte (Heni et al. 2023). Le microbiome, qui représente l'ensemble des micro-organismes commensaux et mutualistes vivant dans un hôte, joue un rôle essentiel dans l'intégrité des individus. En particulier, le microbiome bactérien remplit une diversité de fonctions cruciales, de la digestion des aliments au maintien d'un métabolisme et d'une immunité fonctionnels (Barko et al. 2018). Plusieurs études ont ainsi établi un lien entre infection et composition du microbiome en laboratoire (Theriot et al. 2014; Kubinak et al. 2015). L'influence des modifications du paysage sur la composition du microbiome des hôtes en populations naturelles a été démontrée pour différents modèles biologiques (Bouilloud et al. 2023) avec la mise en évidence de possibles altérations de la compétence des individus associée (Fackelmann et al. 2021; Fleischer et al. 2024).

iii) Finalement, les changements environnementaux découlant des altérations du paysage peuvent également modifier les conditions abiotiques nécessaires aux parasites et à leur transmission (survie hors de l'hôte, cycles complexes, etc.). Par exemple, alors que les variations de température et d'humidité exercent une influence significative sur la survie des tiques (ordre *Ixodida*), la présence d'une canopée et d'une litière épaisse peut maintenir un microclimat, limitant la dessiccation du sol. Les conditions de température et d'humidité maintenues sont alors favorables au développement de cet arthropode vecteur et à son activité de recherche d'hôte (Diuk-Wasser, VanAcker, et Fernandez 2021). Ces paramètres microclimatiques et structurels peuvent aussi conditionner le développement et la survie des endoparasites exposés à l'environnement par leur stade de vie extérieur (Stromberg 1997). Enfin, la dégradation de l'habitat pourrait empêcher le maintien de parasites à cycles hétéroxènes (*c.-à-d* nécessitant plusieurs compartiments hôtes successifs) en altérant l'habitat d'un de ses hôtes (Bitters et al. 2022)

Dans ce contexte, les petits mammifères représentent un compartiment de la faune sauvage particulièrement intéressant pour étudier l'influence du paysage sur la biodiversité et ses liens avec la transmission d'agents de zoonoses. Les petits mammifères constituent une part considérable de la diversité taxonomique des mammifères. L'ordre des rongeurs (classe *Mammalia* : ordre *Rodentia*), par exemple, est composé majoritairement de petits mammifères terrestres et abrite plus de 40 % de toutes les espèces de mammifères. Cette diversité taxonomique s'accompagne d'une grande diversité écologique leur permettant de coloniser une large variété d'habitats, allant des déserts aux forêts tempérées et aux zones urbaines (Merritt 2010). Les petits mammifères y jouent des rôles fondamentaux pour le bon fonctionnement des écosystèmes (Lacher et al. 2019). Ils constituent les proies principales de nombreux prédateurs et contribuent à la régulation des populations d'espèces carnivores (Koks et al. 2007). En tant qu'herbivores, certains ont aussi un rôle significatif dans la structuration des communautés végétales par leur consommation de fruits, de feuilles et de racines (Kauffman et Maron 2006). Certains rongeurs granivores peuvent notamment contribuer à la dispersion des plantes et à la régénération des forêts (Lacher et al. 2019). En tant qu'hôtes, l'ordre des rongeurs constitue un groupe très diversifié jouant un rôle majeur dans la transmission d'agents infectieux vers l'humain. Ce groupe comprend plus de 280 espèces identifiées comme porteuses d'agents zoonotiques (Ecke et al. 2022), dont au moins 79 sont reconnues capables d'héberger plusieurs de ces agents (Han et al. 2015). Parmi les zoonoses associées à ces agents, on retrouve par exemple les hantaviroses causées par les orthohantavirus, la leptospirose causée par des bactéries du genre *Leptospira* (règne *Eubacteria* : ordre *Spirochaetales*) et la maladie de Lyme causée par les bactéries membre du complexe *Borrelia burgdorferi sensu lato* (ordre *Spirochaetales*). De plus, les fluctuations de populations importantes que connaissent certains de ces hôtes peuvent aussi mener à des densités de populations élevées, en particulier chez les espèces synanthropes qui vivent directement au contact des humains (Ecke et al. 2022). En outre, la composition des communautés de rongeurs est fortement impactée par les propriétés et la nature du paysage. Plusieurs méta-analyses ont ainsi mis en évidence une augmentation de la part d'espèces de rongeurs hôtes compétentes dans les milieux soumis à une exploitation humaine importante, comme les zones urbaines, les milieux agricoles ou les forêts exploitées (Mendoza et al. 2019; Gibb et al. 2020).

Les forêts représentent un écosystème d'intérêt majeur pour l'étude des interactions entre le paysage, la biodiversité des petits mammifères et les agents zoonotiques. Elles jouent un rôle essentiel dans le maintien de la biodiversité et fournissent une multitude de services écosystémiques indispensables au bien-être humain (Brockerhoff et al. 2017). Malheureusement, une large part de ces écosystèmes est aujourd'hui menacée par les activités humaines, comme en témoignent l'augmentation des perturbations liées au changement climatique (Seidl et al. 2017), la déforestation à large échelle pour l'agriculture (Pendrill et al. 2022) ou l'influence négative des exploitations intensives sur la biodiversité (Brockerhoff et al. 2008).

En Europe, la forêt des Landes de Gascogne constitue l'un des plus grands massifs forestiers façonnés par l'humain. Au cours du 19<sup>ème</sup> siècle, cette région a vu son paysage et son environnement profondément altérés. Le système agro-pastoral traditionnel a été remplacé, les landes et les marais ont été drainés, et une forêt constituée presque exclusivement de pins maritimes indigènes (*Pinus pinaster*) a été plantée à des fins industrielles (Labbé et al. 2015). Désormais, la biodiversité relativement pauvre de ces plantations intensivement gérées les rend particulièrement sensibles aux incendies, aux dommages causés par le vent, aux organismes ravageurs et aux maladies (Jactel et al. 2017). Face à ce contexte de sylviculture intensive, la diversification des essences d'arbres émerge comme une approche viable pour renouveler les paysages, en intégrant davantage d'habitats favorables à la biodiversité et en atténuant les risques associés aux cultures monospécifiques (Brockerhoff et al. 2017).

Dans cette perspective, la plantation de haies de feuillus apparaît comme une solution de restauration acceptable pour les parties prenantes (Jactel, Moreira, et Castagneyrol 2021). De fait, les haies sont des éléments paysagers semi-naturels reconnues pour leur capacité à soutenir la biodiversité aux abords des terres exploitées par l'humain en offrant des habitats, des abris et de la nourriture à diverses espèces végétales et animales (I. Montgomery, Caruso, et Reid 2020). Les haies plantées pourraient ainsi constituer des habitats et des corridors de dispersion pour la biodiversité forestière, ainsi qu'une protection contre les pressions biotiques et abiotiques pesant sur cet écosystème dégradé. Ce type de restauration écologique du paysage est considéré comme un

moyen d'intervention prometteur pour limiter le danger zoonotique (Prist et al. 2023; Reaser et al. 2021). Cependant, les études cherchant à mettre en évidence cet impact et à comprendre les mécanismes sous-jacents restent parcellaires (Gottdenker et al. 2014). D'autant que chaque agent pathogène peut répondre différemment au changement de paysage (Brearley et al. 2013) et que les solutions existantes basées sur la conservation révèlent une forte dépendance au contexte local et au pathogène étudié (Hopkins et al. 2022). Il est donc impératif d'acquérir une meilleure compréhension de l'influence des haies de feuillus dans le contexte de la forêt des Landes et de leurs caractéristiques sur le danger zoonotique. Ceci dans le but d'identifier, à terme, des éventuelles stratégies gagnant-gagnant pour la biodiversité et la santé publique ou vétérinaire (Hopkins et al. 2022).

Alors que la restauration écologique par la plantation de haies de feuillus est déjà planifiée dans la forêt des Landes (projet européen SUPERB), le potentiel de ces structures et de leurs caractéristiques dans la préservation de la biodiversité et la limitation du danger zoonotique reste à évaluer. Dans ce cadre, mon projet de thèse cherchera à étudier cette question en examinant l'impact de haies de feuillus existantes et de leurs caractéristiques paysagères (connectivité et quantité d'habitat de feuillus) sur les communautés de petits mammifères et la circulation des agents infectieux associés dans la forêt des Landes.

Afin d'atteindre cet objectif, mon projet se concentrera initialement sur l'analyse de l'impact des haies et de leurs caractéristiques sur la diversité et l'abondance des petits mammifères terrestres. Dans une deuxième phase, mon projet de thèse visera à caractériser les communautés d'agents pathogènes présentes chez les rongeurs et à analyser leur distribution en relation avec les caractéristiques du paysage. Je m'attacherai ensuite à identifier les modifications de l'intégrité fonctionnelle susceptibles d'influencer les patrons de circulations des agents pathogènes. Enfin, dans le cadre des démarches visant à promouvoir les solutions fondées sur la conservation et la restauration pour limiter le danger zoonotique, il semble important de faire évoluer les méthodes d'étude de la biodiversité vers des approches moins invasives et perturbantes pour la faune. Dans cette optique, je propose d'explorer l'efficacité et l'intérêt pratique de méthodologies peu perturbantes pour le suivi des petits mammifères.

## B. Premier axe : Influence du paysage sur la biodiversité des petits mammifères

### 1. Introduction

La capacité d'un environnement à accueillir des petits mammifères dépend de sa propension à satisfaire leurs besoins physiologiques, nutritionnels, sociaux et anti-prédateurs. Cette aptitude est directement influencée par une combinaison de caractéristiques locales et paysagères (Fuentes-Montemayor et al. 2020). Dans un paysage fragmenté par l'activité humaine, le degré d'isolement et de connectivité des fragments d'habitats favorables sont notamment susceptibles d'influencer l'abondance des petits mammifères (Fitzgibbon 1997). D'autres paramètres paysagers comme la superficie totale et la taille des fragments d'habitats favorables peuvent aussi influencer ces communautés (Vieira et al. 2009; Melo et al. 2017), possiblement en influençant le risque d'extinction locale et la qualité du milieu de vie. De fait, les attributs locaux sont aussi importants pour déterminer si un habitat convient aux petits mammifères. Le degré de complexité du micro-habitat et la diversité des espèces végétales présentes peuvent notamment influencer la quantité de refuges et de ressources disponibles (Fitzgibbon 1997; Ecke et al. 2001; Fuentes-Montemayor et al. 2020).

En raison des besoins différents de chaque espèce de petits mammifères terrestres, ces derniers sont plus ou moins spécialistes d'un type d'habitat et répondent donc différemment aux altérations du paysage. Si bien que la structure de ces communautés animales peut être considérée comme un indicateur de l'intégrité des écosystèmes (Avenant 2011). Ces espèces de petits mammifères peuvent être classées selon un continuum de spécialisation, allant des espèces généralistes comme le mulot sylvestre (famille *Muridae* : *Apodemus sylvaticus*), à des espèces plus spécialistes comme le campagnol roussâtre (famille *Cricetidae* : *Clethrionomys glareolus*), voire à des espèces très spécialistes trouvées exclusivement dans un type d'habitat spécifique

(famille *Cricetidae* : *Arvicola sapidus*). Les généralistes seront les plus à même de se maintenir dans les milieux naturels fortement dégradés, notamment par leur capacité à tirer parti des ressources présentes dans la matrice environnante (Todd, Tew, et Macdonald 2000). Les spécialistes ayant des exigences d'habitat plus strictes perçoivent généralement la matrice comme hostile et sont plus négativement impactés par la perte, la fragmentation et la dégradation des habitats (Gentili, Sigura, et Bonesi 2014).

Au sein des paysages agricoles, les haies de feuillus peuvent constituer un habitat propice pour plusieurs espèces de petits mammifères (Gelling, Macdonald, et Mathews 2007; Todd, Tew, et Macdonald 2000), pouvant également servir de corridors écologiques reliant des zones forestières (Davies et Pullin 2007). Cependant, les haies restent des structures semi-naturelles très variables qui ne peuvent pas être considérées comme des habitats équivalents aux forêts. Schlinkert et al. (2016) ont révélé qu'en milieu agricole, les haies abritent significativement moins de petits mammifères que les forêts de feuillus, en particulier en raison de la variation de l'abondance des espèces spécialistes, bien que la richesse spécifique ne diffère pas. L'étude note également que si la connectivité des haies n'influe pas sur l'abondance des espèces spécialistes, l'isolement semble bénéfique pour les espèces généralistes.

Dans les milieux sylvicoles, la gestion des plantations affecte directement la qualité de l'habitat de la faune en modifiant la structure et la composition de la végétation. Les plantations de conifères peuvent par exemple avoir un effet négatif sur la diversité des espèces de petits mammifères (Panzacchi et al. 2010) en faveur de certaines espèces généralistes (Gasperini et al. 2016). L'effet des haies de feuillus sur la biodiversité des petits mammifères terrestres dans ce contexte reste, à notre connaissance, encore inexploré.

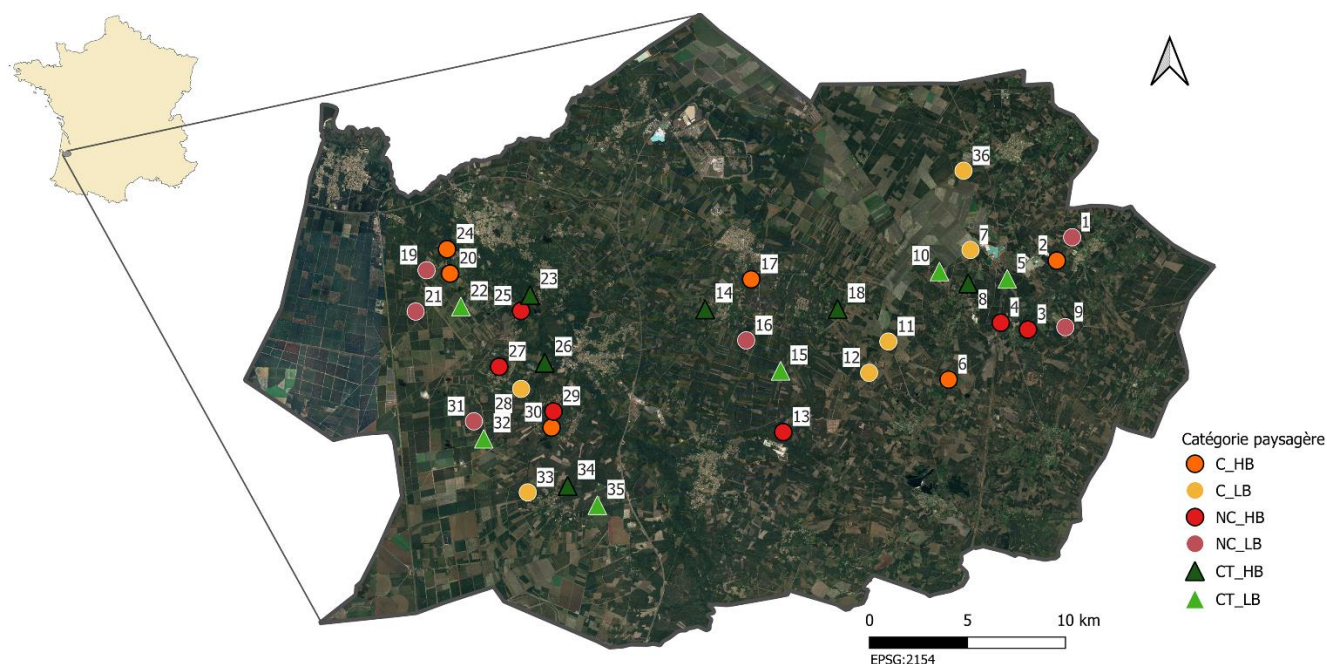
Dans le cadre de mon projet de thèse, nous nous intéresserons à cette question en décrivant et comparant les patrons de biodiversité des petits mammifères terrestres (richesse spécifique et abondances relatives) dans le réseau de haies de feuillus de la pinède des Landes. Nous avons ainsi émis les hypothèses suivantes : i) les lisières de pins accueillent des communautés de petits mammifères terrestres pauvres, dominées par des espèces généralistes, ii) les haies de feuillus abritent une plus grande abondance, richesse et diversité de petits mammifères liées à la présence d'espèces forestières spécialistes, et iii) la connectivité des haies et la quantité d'habitat de feuillus proche ont un effet bénéfique sur l'abondance et la diversité des communautés de petits mammifères.

## 2. Matériel et méthodes

### a) Zone d'étude

L'échantillonnage s'appuie sur le protocole standard développé dans le cadre du projet européen SUPERB situé dans une zone de 1050 km<sup>2</sup> au sud du bassin d'Arcachon (centre : 44°33'38.2"N 0°46'36.7"W – Figure 1). Ce protocole comprend 12 lisières de parcelles de pins contrôles et 24 haies de feuillus, séparées d'au moins 500 mètres. Les haies sont principalement constituées de chênes pédonculés (*Quercus robur*) ou de chênes tauzins (*Quercus pyrenaica*), et mesurent entre 100 et 400 mètres de long, de 2 à 15 mètres de large et de 5 à 20 mètres de haut. Les 36 sites d'échantillonnage sont répartis en 6 catégories paysagères, chacune comprenant 6 réplicas (6 sites × 6 modalités), caractérisant le pourcentage de couverture en feuillus adjacente et la connectivité. Le paysage environnant les haies et les lisières est qualifié d'habitat riche s'il comprend entre 14 et 30 % de feuillus et de pauvre s'il en compte moins de 6 % dans un rayon de 500 mètres autour du site. Les haies sont considérées comme connectées si elles se trouvent à moins de 100 mètres d'un îlot contenant des feuillus ou à moins de 50 mètres d'une haie connectée à un îlot. La cartographie des feuillus dans la zone d'étude repose sur l'analyse de données image infrarouge couleur (IRC) par les membres de l'UMR BIOGECO.





**Figure 1. Carte de la répartition des sites au sein du protocole standard SUPERB**

Les sites sont représentés en fonction de leurs modalités paysagères tel que : CT : lisières de pin contrôles, NC : haie non-connectée, C : haie connectée, LB : habitat pauvre en feuillus, HB : habitat riche en feuillus. Carte créée sur QGIS (3.36) à partir des données satellites de Google Earth.

#### b) Piégeage et identification des petits mammifères

Le piégeage des petits mammifères est réalisé via un échantillonnage biannuel, avant et après le pic de reproduction, soit au printemps tardif et en automne. Les sessions de piégeage suivent une procédure standardisée (Pradel et al. 2022). Pour chaque site, une série de trois à quatre nuits de piégeage est réalisée à l'aide de pièges non vulnérants à capture unique de type INRA, appâtés avec un mélange de graines de tournesol, de carottes et de sardines. Vingt pièges par site, espacés d'environ 5 mètres, sont disposés le long de chaque haie ou parcelle de pins. Chaque matin, les pièges sont vérifiés et réarmés ou réappâtés si nécessaire. Deux sessions de piégeage ont déjà été menées en 2023, totalisant un effort d'échantillonnage global minimal de 4338 nuits-pièges. Un piège grillagé par site a été posé au printemps afin de capturer d'éventuels rongeurs de grande taille (*p. ex Rattus norvegicus*), mais faute de capture, leur emploi n'a pas été reconduit en automne 2023.

Les rongeurs capturés ont été euthanasiés par dislocation cervicale après sédation via inhalation d'isoflurane (Mills et al. 1995), avant d'être mesurés, pesés, sexés et identifiés. Les caractéristiques sexuelles ont été enregistrées pour chaque spécimen afin de déterminer ultérieurement les groupes fonctionnels (juvéniles, subadultes, jeunes et vieux adultes ; Henttonen 2022). Des échantillons de tissus et de fluides ont également été prélevés en vue des différentes analyses prévues (Partie II.C et II.D). Les insectivores (ordre *Eulipotyphla* : famille *Soricidae*) capturés ont été relâchés immédiatement sur le lieu de piégeage, tandis que les fèces présentes dans les pièges ont été collectées pour identification. Une patte a été prélevée pour les insectivores retrouvés morts dans les pièges. Tous les petits mammifères piégés ont été identifiés moléculairement en utilisant une approche de metabarcoding ciblant le gène COI (voir détail partie II.D.2), à partir des échantillons de fèces ou de pattes (uniquement pour quelques insectivores). L'ensemble de ces informations a été enregistré dans la « Base de données Petits Mammifères » du CBGP (« CBGP - Small mammal Collection » 2022).

#### c) Analyses des données

##### (1) Indicateurs de biodiversité

La biodiversité en petits mammifères terrestres sur nos sites a été évaluée pour chaque période d'échantillonnage, c'est-à-dire pour chaque saison de chaque année. Elle a été estimée à l'aide d'indices de diversité alpha. D'abord par la richesse spécifique, c'est-à-dire le nombre d'espèces différentes présentes. Puis



à l'aide de l'indice de Shannon, tenant compte des abondances relatives de chaque espèce dans le milieu. Le taux de capture a également été utilisé comme un proxy de l'abondance relative de chaque espèce piégée en ayant soustrait les pièges enclenchés sans captures du nombre total de nuits-pièges. Tous les indicateurs cités sont calculés à partir des données des trois premières nuits consécutives de piégeage uniquement.

## (2) Analyses statistiques

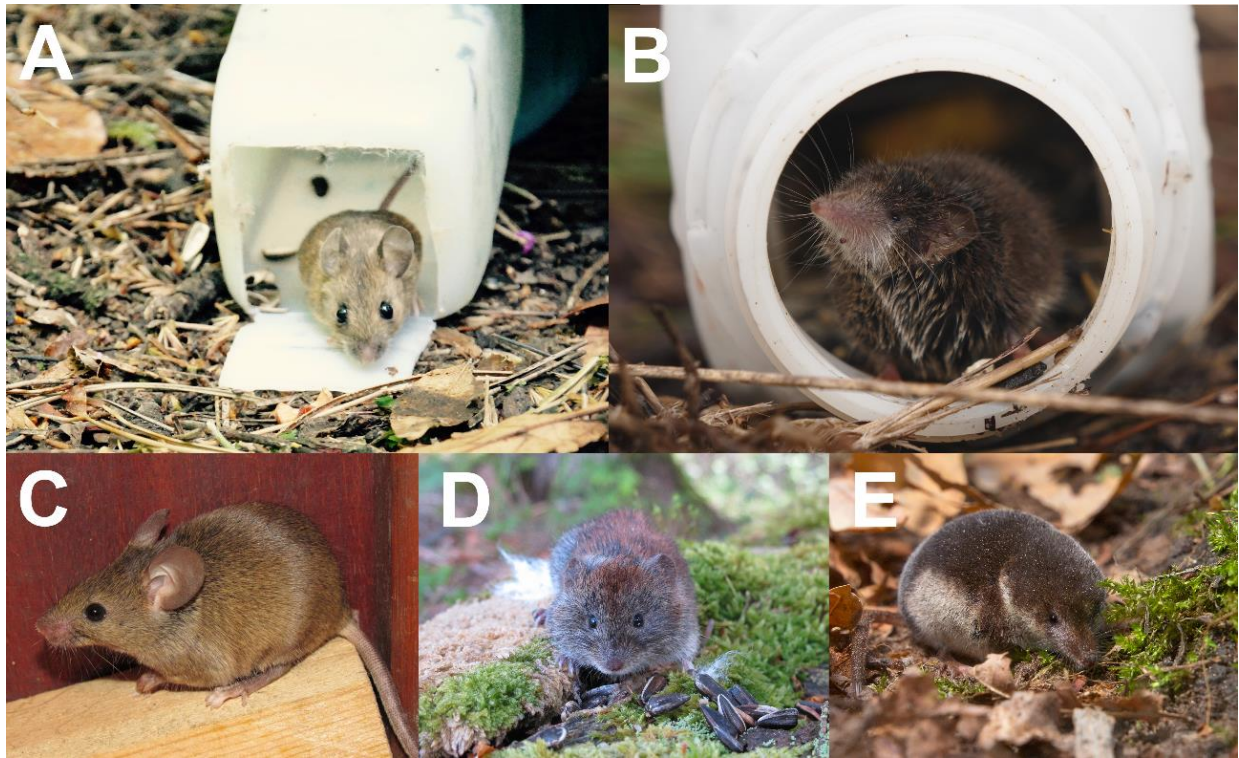
L'effet potentiel des modalités paysagères sur la diversité alpha et l'abondance en petits mammifères a été testé à l'aide de modèles linéaires généralisés à effets mixtes (GLMM).

Pour la richesse spécifique, une régression de Poisson a été formalisée sur le logiciel R (v. 4.3.2) grâce à la fonction *glmer()* du package lme4 (v. 1.1-35.1) et la fonction de lien *log*. La richesse spécifique corrigée ( $-1$ ) a été employée pour que la variable dépendante suive une loi de distribution de Poisson. Une approche de sélection de modèles a été employée en partant d'un modèle global incluant la période d'échantillonnage et les deux variables catégorielles du paysage avec leur relation en effet fixe, ainsi que le numéro de site en tant que facteur aléatoire, tel que :  $Richesse - 1 \sim Type\ de\ ligne * Habitat + Periode + (1|numero\ de\ site)$ . Les meilleurs modèles dérivés ont été sélectionnés à l'aide du critère d'Akaike corrigé (AICc) qui a été calculé pour tous les modèles dérivés à l'aide de la fonction *dredge* du package MuMIn (v. 1.47.5). Les modèles dérivés présentant une différence d'AICc inférieure à 2 par rapport au modèle ayant l'AICc le plus faible ont été conservés et considérés comme équivalents. Parmi eux, les modèles les plus parcimonieux (*c.-à-d.* contenant le moins de variables explicatives à effet fixe possible) ont été conservés. L'ajustement des modèles a été vérifié visuellement par le contrôle des résidus simulés par le package DHARMA (v. 0.4.6). La surdispersion des résidus a été contrôlée à l'aide de la fonction *overdisp.glmer()* du package RVAideMemoire (v. 0.9-81-2). Nous avons finalement utilisé des tests de déletion pour évaluer la significativité des variables indépendantes dans les modèles conservés à l'aide de tests de rapport de vraisemblance. Des tests post-hocs de Tukey ont été réalisés à l'aide du package emmeans (v. 1.10.1) pour évaluer les différences entre les paires de modalités dans le cas de variables significativement explicatives.

Le même processus ainsi que le même modèle global ont été utilisés pour tester l'effet des modalités paysagères sur l'indice de Shannon, en utilisant une distribution gaussienne. De même, pour tester l'effet de ces modalités sur l'abondance relative des petits mammifères, une régression logistique avec une fonction de lien *logit* a été employée à partir du taux de capture.

## 3. Résultats préliminaires

Un faible taux de capture global a été observé lors de la première année d'échantillonnage avec 1,25% de captures au printemps et 4,36% en automne. La richesse spécifique des espèces capturées se révèle elle aussi très restreinte (Figure 2), se limitant à seulement trois espèces de rongeurs (*Apodemus sylvaticus*, *Clethrionomys glareolus*, *Mus musculus*) et deux espèces d'insectivores (*Crocidura russula*, *Sorex coronatus*). Parmi celles-ci, une nette prédominance est observée pour une espèce de rongeur généraliste (*A. sylvaticus*), ainsi que pour une espèce d'insectivore (*C. russula*). Au cours du printemps 2023, nous avons piégé 23 rongeurs (*A. sylvaticus*) et 3 insectivores (*C. russula*). Les captures ont été plus abondantes en automne, avec 55 rongeurs (53 *A. sylvaticus*, 1 *C. glareolus*, 1 *Mus musculus*) et 37 insectivores (36 *C. russula* et 1 *Sorex coronatus*). Sur les deux saisons, trois sites n'ont abouti à la capture d'aucun petit mammifère et cinq sites à la capture d'aucun rongeur. La moyenne d'individus capturés pour les trois premières nuits de piégeage est d'environ 0,67 et 1,4 rongeurs par site au printemps et en automne respectivement.



**Figure 2. Illustration des petits mammifères piégés dans la forêt des Landes de Gascogne**  
**A.** Mulot sylvestre : *Apodemus sylvaticus*, **B.** Crocidure commune : *Crocivure commune* : *Crocivure commune* : *Crocivure commune*, **C.** Souris grise : *Mus musculus*, **D.** Campagnol roussatre : *Clethrionomys glareolus*, **E.** Musaraigne couronnée : *Sorex coronatus*.

#### a) Analyse de la richesse spécifique

A l'issue de la sélection de modèles, le meilleur modèle obtenu ( $\Delta AIC = 0$ ) contient uniquement la période d'échantillonnage comme effet fixe ( $LRT = 74.7$ ,  $p = 0.011$ ). La richesse spécifique est plus importante en automne 2023 (captures de *C. glareolus*, *M. musculus* et *S. coronatus*) qu'au printemps 2023 ( $Z$  ratio = -2.12 ;  $p = 0.03$ ).

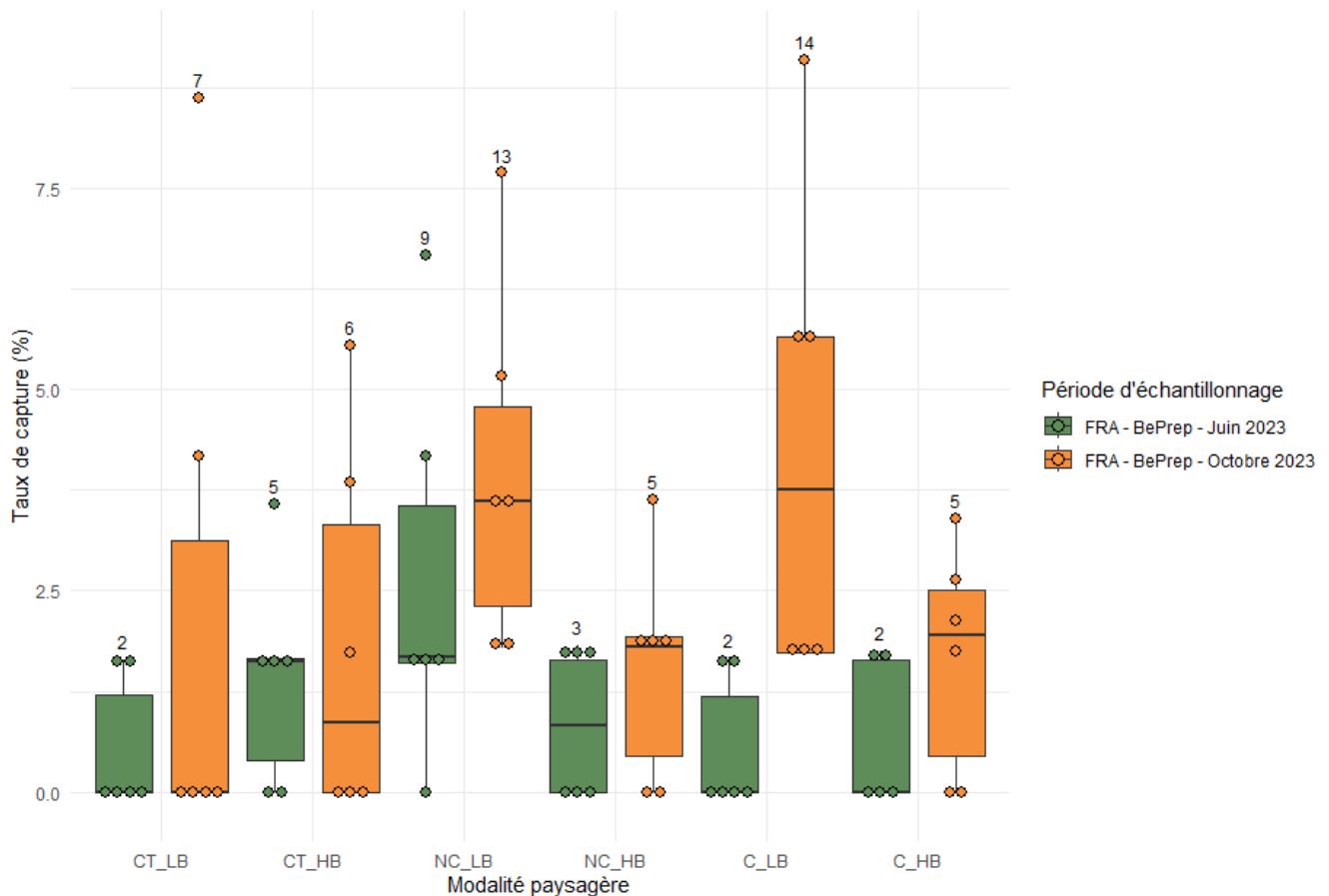
#### b) Analyse de l'indice de Shannon

En raison des faibles abondances de rongeurs et de la libération des insectivores sans marquage, le calcul de l'indice de Shannon pour les communautés de petits mammifères durant la première année d'échantillonnage n'a pas été possible. Des mesures seront mises en place lors des prochaines sessions pour pallier ce problème (cf. partie II.B.5)

#### c) Analyse des abondances relatives

L'analyse de l'effet des modalités sur l'abondance relative n'a été possible que pour *A. sylvaticus* (Figure 3), les autres espèces de rongeurs étant présentes en trop faibles effectifs et les insectivores ayant été relâchés sans marquage.

A l'issue de la sélection de modèles, le meilleur modèle obtenu ( $\Delta AIC = 1.58$ ) contient uniquement la période d'échantillonnage comme effet fixe ( $LRT = 203.7$ ,  $p < 0.001$ ). Le taux de capture de *A. sylvaticus* est plus important en automne 2023 qu'au printemps 2023 ( $Z$  ratio = -3.25 ;  $p = 0.0012$ ).



**Figure 3. Fluctuations du taux de capture d'*Apodemus sylvaticus* selon les modalités paysagères**  
 Représentation par boîtes à moustaches du taux de capture ajusté du mulot sylvestre pour chaque site et période d'échantillonnage. Les sites sont définis par leurs modalités paysagères, tel que : *CT* : lisières de pin contrôles, *NC* : haie non-connectée, *C* : haie connectée, *LB* : habitat pauvre en feuillus, *HB* : habitat riche en feuillus. Le nombre total de mulot piégé par période-traitement est indiqué au-dessus des boîtes à moustache correspondantes.

#### 4. Discussion

Comme prévu, nous avons constaté une prédominance des espèces généralistes (ici le mulot sylvestre *A. sylvaticus* et *C. russula*) dans les lisières de pins. Cependant, alors que nous attendions un effet positif des haies et de leurs caractéristiques sur la richesse spécifique de ces communautés, les modalités paysagères ne semblent pas influencer significativement la richesse des petits mammifères. La très grande majorité appartenant à une espèce généraliste, peu importe le site considéré. Si ce constat va à l'encontre de nos hypothèses sur le rôle bénéfique de ces structures sur la biodiversité, il reste cependant conforme à l'image d'une forêt des Landes à la biodiversité dégradée. L'observation d'une richesse spécifique significativement plus importante en automne pourrait s'expliquer par un taux de capture plus important pour cette période. N'ayant pas été en mesure d'estimer l'indice de diversité de Shannon, nous n'avons pas pu répondre pleinement à notre hypothèse concernant l'influence du paysage sur la diversité des petits mammifères.

Notre incapacité à estimer l'abondance relative des insectivores ne nous permet que partiellement de comprendre l'impact du paysage sur l'abondance des petits mammifères terrestres.

Les catégories paysagères ne semblent pas avoir d'influence sur l'abondance relative de *A. sylvaticus*. Ce résultat ne rentre pas en contradiction avec nos hypothèses. Nos hypothèses portaient principalement sur les espèces spécialistes, théoriquement plus sensibles aux conditions d'habitats, mais nous n'avons pas pu les tester en raison de la quasi-absence de ces espèces dans nos sites d'étude.

En parallèle, il a été observé un plus grand taux de capture pour le mulot sylvestre en automne comparé au printemps. Les variations du taux de capture entre les périodes d'échantillonnage s'expliquent par la saisonnalité de la reproduction de ces rongeurs.

En comparaison des autres expériences de l'équipe dans le piégeage de petits mammifères au sein des forêts tempérées françaises, les taux de captures sont globalement très faibles. Certains rongeurs, dont certains membres de la famille des *Cricetidae* (dont fait partie *C. glareolus*) sont soumis à des cycles pluriannuels de densité très importants, dont les mécanismes demeurent partiellement compris (Andreassen et al. 2021). Des densités faibles de population nous ont été rapportées ailleurs en France et en Europe depuis 2022 et pourraient contribuer à expliquer nos résultats. Hors événement météorologique majeur, un stade de croissance des populations de micromammifères forestiers est attendu pour les années 2024 et 2025.

## 5. Perspectives

Alors que la procédure d'échantillonnage ne prévoyait pas le marquage des insectivores malgré leur libération, ceux-ci seront marqués lors des prochaines sessions afin de distinguer les individus préalablement capturés. Ce marquage permettra ainsi l'estimation des abondances relatives de ces petits mammifères et l'emploi d'indices de diversité tenant compte de l'abondance pour répondre à nos hypothèses. Les pattes des insectivores retrouvés mort ne seront plus collectées, au profit d'un échantillon de fèces qui permet l'identification moléculaire de l'hôte tout en permettant l'obtention d'informations relatives au régime alimentaire (cf. Partie II.C.).

La faible diversité constatée parmi les rongeurs dans nos sites nous incite à recentrer notre projet sur l'espèce dominante et généraliste : *A. sylvaticus*. Les analyses prenant place dans le deuxième et troisième axe du projet de thèse se concentreront donc principalement sur l'influence du paysage pour cette espèce modèle.

Une première approche consisterait à approfondir notre compréhension de la diversité et de la structure génétique de cette espèce au sein de ce paysage spécifique. Pour ce faire, une vingtaine de marqueurs microsatellites autosomaux spécifiques de *A. sylvaticus* sont en cours de développement par Anne Loiseau (INRAE-CBGP) d'après le génome de référence disponible sur GenBank. Le génotypage de nos spécimens pourrait ainsi nous permettre d'explorer les patrons de génétique du paysage (outil MAPI : Piry et al. 2016) et d'acquérir une meilleure compréhension du rôle des haies dans la structuration génétique de cette espèce (Guivier et al. 2011). Cette donnée pourrait également nous permettre de corréler la distribution des agents pathogènes avec les schémas de différenciation génétique et de consanguinité de cette espèce hôte (dans le cadre de la Partie II.C.).

L'intégration de variables liées à la qualité du micro-habitat des haies pourrait contribuer à expliquer la répartition des petits mammifères et l'abondance de *A. sylvaticus*, étant donné l'impact significatif que ces variables peuvent avoir sur la structuration de ces communautés (Fuentes-Montemayor et al. 2020) et sur le rôle de corridor que les haies peuvent jouer (Dondina et al. 2016). Les efforts de caractérisation menés par l'équipe de l'UMR BIOGECO dans le cadre du projet européen SUPERB nous offrent la possibilité d'exploiter certaines de ces variables clés. Les données relatives à la composition en plantes vasculaires des sites ainsi qu'aux données microclimatiques sont déjà disponibles. Des données de stratification, de largeur et de hauteur collectées au LIDAR, ainsi que des données de dendro-microhabitats pourraient également venir s'y ajouter.

Enfin, il serait intéressant d'étendre l'échantillonnage à des zones « contrôles positifs » d'ilots forestiers plus riches en feuillus pour voir si la biodiversité trouvée dans nos haies correspond à ce qui est trouvé dans le meilleur habitat disponible dans la région. L'échantillonnage dans ces zones forestières pourrait aussi permettre une comparaison plus contrastée qu'entre nos sites d'études (comparaisons lisière-haie-foret). En effet, nous nous attendons à y trouver des communautés plus diverses et abondantes. En outre, ces environnements pourraient avoir un impact significatif sur les processus de transmission entre hôtes ainsi que sur l'intégrité fonctionnelle des individus, en lien avec les deuxième et troisième axes du projet de thèse. Ainsi, six ilots de feuillus ont été identifiés et doivent être prospectés avant la prochaine session d'échantillonnage. Nous

envisageons d'y installer un total de 16 sites de captures de 20 pièges chacun. Les sites de captures seront répartis ainsi : six sites pour deux des îlots et un unique site pour chacun des quatre autres. Ce design devrait nous permettre de comparer la catégorie « îlot forestier » avec les autres catégories paysagères (6 répliques avec un site) et d'atteindre un effectif suffisant pour avoir une estimation de la biodiversité dans les deux îlots les plus couverts. Enfin, si le projet initialement planifié prévoyait quatre sessions d'échantillonnage sur une période de deux années, les faibles effectifs obtenus pourraient nous amener à ajouter une ou deux sessions supplémentaires (fin d'échantillonnage prévue pour l'automne 2025).

## C. Deuxième axe : Impact du paysage sur la diversité et la prévalence des agents pathogènes de rongeurs

### 1. Introduction

La diversité des agents pathogènes présents dans la faune sauvage se distingue par une diversité de cycles de vie, de morphologies, de niches écologiques et de patrimoines génétiques. Ces caractéristiques sont susceptibles d'influencer leurs interactions avec les hôtes, leur environnement et les autres agents pathogènes, conditionnant ainsi leur réponse aux diverses caractéristiques du paysage.

Les communautés d'agents pathogènes présentes dans la faune sauvage sont influencées par une multitude de facteurs biotiques et abiotiques, agissant à diverses échelles. Les éléments abiotiques, comme le climat, peuvent notamment affecter la viabilité des agents pathogènes dans l'environnement, tandis que d'autres, comme la configuration du paysage, peuvent modifier la probabilité de rencontre et de transmission entre hôtes. Les facteurs biotiques intrinsèques de l'hôte tels que l'espèce, le sexe, l'âge, l'état de santé et les caractéristiques génétiques (en particulier immunogénétiques) peuvent influencer la compétence des hôtes et, par conséquent, la propagation de leurs agents pathogènes à l'échelle des communautés et des populations. Les agents pathogènes présents dans l'environnement ou au sein des hôtes peuvent également avoir des interactions directes et indirectes, susceptibles d'influencer leurs probabilités d'infections mutuelles, leur réplication ou leur transmission (Pedersen et Fenton 2007).

À l'échelle du paysage, la diversité des agents pathogènes est intimement liée à la richesse en hôtes. Les communautés d'hôtes plus riches sont susceptibles d'abriter une gamme plus large de parasites, en raison de la spécificité de certaines interactions hôtes-parasites et du potentiel d'établissement de parasites aux cycles de vie complexes dans ces communautés (Kamiya et al. 2014). De plus, dans les communautés plus diversifiées, la prévalence des agents pathogènes est susceptible de diminuer grâce à la mise en place d'un effet de dilution (Keesing, Holt, et Ostfeld 2006).

La réponse des agents pathogènes transmis par contact direct et/ou excrétion aux caractéristiques du paysage est étroitement liée à la manière dont les hôtes eux-mêmes répondent à ces paysages. En général, les pathogènes transmis entre hôtes par voie horizontale (*c.-à-d* non lié à une transmission à la progéniture) directe suivent un processus de transmission dépendant de la densité et du taux de contacts entretenus entre hôtes (Brearley et al. 2013). Dans les paysages altérés, la dégradation et la fragmentation des habitats conduisent généralement à une diminution de la taille et de la connectivité des fragments, ce qui peut restreindre les opportunités de dispersion et avoir un impact négatif sur la densité et le taux de contacts, limitant donc la transmission (Brearley et al. 2013). Guivier et al. 2011 ont notamment observé des séroprévalences en *Puumala orthohantavirus* (PUUV) plus basses dans les populations de rongeurs isolées génétiquement dans les réseaux de haies par rapport aux grands espaces forestiers. De même, Voutilainen et al. 2012 ont constaté des séroprévalences plus élevées dans les forêts les plus matures, en lien avec les variations de densité de rongeurs positives qui y sont associées. Des patrons plus complexes peuvent également être observés. Par exemple, Langlois et al. 2001 ont remarqué une augmentation de la séroprévalence en *Orthohantavirus* dans les paysages les plus fragmentés, avec des niveaux de prévalence plus élevés pour les paysages caractérisés par une proportion d'habitats favorables très faible ou haute.

L'impact du paysage sur la prévalence des agents pathogènes à transmission vectorielle peut-être très variable, car cette réponse dépend autant de celle des membres du compartiment vertébré que de celle des vecteurs (Brearley et al. 2013). La composition et l'abondance des communautés de vecteurs dépendent par ailleurs des conditions abiotiques du milieu ainsi que des communautés de vertébrés présentes. Parmi les hôtes vecteurs, les tiques dures (ordre *Ixodida* : famille *Ixodidae*) sont responsables de la transmission de nombreux agents pathogènes d'humains et de rongeurs. De manière générale, les tiques dures européennes sont plutôt associées aux milieux boisés (Bourdin et al. 2023), car ces environnements leur fournissent des conditions microclimatiques favorables et sont en mesure d'héberger les hôtes nécessaires à leurs repas sanguins. Les petits mammifères constituent notamment leurs hôtes privilégiés lors du stade larvaire, si bien que leur abondance est susceptible d'influencer la quantité de nymphes circulants l'année suivante (Perez et al. 2016). Les larves peuvent leur transmettre les agents pathogènes acquis par voie verticale (*c.-à-d* de la mère, van Duijvendijk et al. 2016; Hauck et al. 2020), tandis que les nymphes peuvent également leur transmettre des agents pathogènes qu'elles ont elles-mêmes acquises lors de leur repas à l'état larvaire.

Les paysages comprenant une grande proportion d'habitats forestiers connectés offrent des conditions particulièrement propices à certains grands mammifères (Tufto, Andersen, et Linnell 1996), qui sont les hôtes privilégiés des tiques adultes femelles. La présence et la circulation de ces mammifères est donc susceptible d'augmenter l'abondance des tiques (Hofmeester et al. 2017). La méta-analyse réalisée par Bourdin et al. 2023 met notamment en évidence l'influence positive des ongulés sur l'abondance de *I. ricinus*, quel que soit le stade de développement.

Cependant, bien que l'abondance des tiques soit un facteur crucial dans la transmission de leurs agents pathogènes, la prévalence de ces pathogènes peut être influencée par d'autres facteurs. Bourdin et al. 2022 et Bourdin 2023 ont observé que la prévalence des nymphes d'*I. ricinus* infectées par *B. burgdorferi s.l* étaient moins élevées dans les forêts mixtes (composées à la fois de conifères et de feuillus) que dans les forêts constituées d'une seule espèce d'arbre. Bourdin et al. 2022 ont notamment observé une prévalence maximale dans les exploitations de pins pour ce complexe d'espèces. En Belgique, Ruyts et al. 2016 a constaté une fréquence accrue de nymphes d'*I. ricinus* infectées par *B. afzelii* dans les peuplements de conifères. Cette bactérie ayant pour hôtes vertébrés principaux des petits mammifères, une augmentation de la prévalence chez les nymphes pourrait être le témoin de prévalences plus importantes dans ces communautés. Ces études avancent l'hypothèse que l'effet de la composition des habitats sur la prévalence pourrait être attribué à une plus grande diversité d'hôtes dans les forêts mixtes, ce qui pourrait entraîner un effet de dilution des pathogènes en raison des degrés de compétence variables des différents vertébrés hôtes de tiques pour ces bactéries.

Les différentes réponses possibles des agents pathogènes face aux caractéristiques du paysage soulignent la nécessité d'adopter une approche multi-pathogènes et multi-compartiments (vertébré-vecteur) pour évaluer l'impact de la modification du paysage sur le danger zoonotique. Dans le contexte de la forêt des Landes, les agents pathogènes circulant au sein des populations de rongeurs et de tiques restent à identifier, tout comme l'influence des haies et de leurs caractéristiques sur leur circulation. Dans ce volet, nous nous attacherons donc à décrire la diversité des agents pathogènes présents chez les rongeurs et les tiques de la forêt des Landes et à analyser les facteurs influençant leur prévalence (tels que le sexe, le poids, et la saison) et l'impact du paysage sur ces schémas. En raison des faibles taux de captures observés pour les autres espèces de rongeurs (*cf.* Partie IIB), notre analyse se focalisera sur les agents pathogènes circulant au sein des populations de mulots sylvestres (*A. sylvaticus*).

À cet égard, nous formulons les hypothèses suivantes concernant la diversité et la prévalence en pathogènes. Les haies de feuillus, en particulier celles qui sont connectées et dans des environnements riches en feuillus, abritent la plus grande diversité d'agents pathogènes. Les pathogènes à transmission directe sont plus prévalents dans ces paysages favorables, tandis que l'influence du paysage sur la prévalence des agents pathogènes à transmission vectorielle dépend de l'espèce pathogène considérée. De plus, nous supposons que les tiques sont plus fréquemment retrouvées sur les hôtes et à l'affût dans les paysages les plus favorables, mais



que les prévalences de certains de leurs agents pathogènes peuvent y être réduites, notamment pour les *Borrelia* spp. Enfin, nous émettons l'hypothèse que les patrons de prévalence observés chez les tiques et les nymphes sont similaires à ceux présents chez les rongeurs pour les agents pathogènes vectorisés par les tiques.

## 2. Matériel et méthodes

### a) Caractérisation des ectoparasites

#### (1) A partir de l'environnement

Les tiques à l'affut présentes sur nos sites ont été collectées une fois par site et par période d'échantillonnage à l'aide d'un drap blanc de 1m×1m lesté et trainé sur le sol à vitesse constante le long d'un transect de 100m. Les nymphes et les adultes ont été comptées et conservées dans des tubes contenant du RNA Shield après chaque passage, en prévision des analyses ultérieures prévues par nos partenaires européens (détection des *Borrelia* spp. et d'autres agents pathogènes bactériens par le RIVM).

#### (1) A partir des rongeurs piégés

La présence de tiques et de puces (ordre *Siphonaptera*) a été contrôlée visuellement (sans recours à un peigne) et notée lors de la dissection des rongeurs capturés. Les tiques ont été dénombrées, collectées et conservées dans l'alcool en prévision des analyses ultérieures. Le stade de développement des tiques ainsi que leur statut de gorgement en sang ont été déterminés ultérieurement à l'ANSES de Maisons-Alfort (cf. Partie II.C.2.b.5).

### b) Détection et identification des agents infectieux

Des approches sérologiques et moléculaires ont été menées pour décrire la diversité des agents pathogènes présents chez les 78 rongeurs piégés (cf. Partie II.B) ainsi que chez les tiques collectées sur ces derniers.

#### (1) Détection d'anticorps anti-*Orthohantavirus*

La présence d'anticorps anti-*Orthohantavirus* a été contrôlée à l'aide de tests ELISA indirects. Les échantillons de sang séché sur papier Whatman (sérobuvards) ont été élués dans une solution de PBS 1X Tween 0,1%. L'échantillon provenant de chaque individu a été incubé avec deux types d'antigènes : l'antigène recombinant HTV-001 pour la détection d'anticorps dirigés contre des virus proches du *Dobrava-Belgrade orthohantavirus* et une solution d'antigènes de *Tula orthohantavirus* pour la détection d'anticorps dirigés contre des virus proches. Chaque échantillon a aussi été incubé avec un antigène recombinant du virus de Lassa (LSV-002) en guise de témoin négatif. Pour contrôler la validité des résultats, chaque plaque a été dotée d'un échantillon positif et négatif connu. La révélation a été réalisée par dégradation de TMB après incubation avec des anticorps secondaires anti-souris couplés à la peroxydase.

#### (2) Détection des *Leptospira* spp. pathogènes

Nous avons utilisé les échantillons de rein préservés dans l'alcool et une méthode de qPCR pour détecter la présence de *Leptospira* spp. pathogènes. L'ADN a été extrait à l'aide d'un kit BioBasic (EZ-10 Well Plate Genomic DNA isolation) à partir d'un fragment de rein. La qPCR a été réalisée suivant le protocole décrit par (Dobigny et al. 2015). Il cible une partie du gène lipL32 codant pour une lipoprotéine considérée comme un facteur de virulence absent des espèces non pathogènes (Stoddard et al. 2009). L'ensemble des réactions a été réalisé au LightCycler LC480 en duplicat. Un échantillon positif et un négatif connu ont été intégrés à la plaque en guise de contrôle. Les échantillons dont le seuil de cycle (Ct) était supérieur à 40 ont été considérés comme négatifs.

#### (3) Détection sans *a priori* des bactéries pathogènes

La présence d'autres bactéries potentiellement pathogènes a été détectée à partir des échantillons de rate conservés en alcool grâce à une approche de metabarcoding. La rate a été utilisée car cet organe est impliqué dans la filtration du sang, ce qui permet de détecter un large éventail d'agents microbiens pathogènes et zoonotiques. L'ADN a été extrait avec un kit Qiagen (DNeasy® 96 Blood & Tissue) et la région variable V4



du gène 16S a été amplifiée par une procédure « 1-step » selon le protocole décrit par (Galan et al. 2016). Des contrôles négatifs pour l'extraction, l'amplification PCR et l'indexage ont été intégrés pour toutes les plaques utilisées. Des contrôles positifs, tels que le ZymoBIOMICS Microbial Community Standard et le DNA Standard, ont également été inclus. De plus, chaque échantillon a été amplifié indépendamment deux fois.

Les amplicons ont été séquencés grâce à la technologie de séquençage haut débit MiSeq (2 x 251 pb). Les reads forward et reverse résultantes ont été tronqués à la taille attendue et fusionnés à l'aide de Cutadapt et Flash. Ces séquences ont ensuite été traitées sur le flux de travail FROGS (Escudé et al. 2018) où elles ont été dérépliquées puis regroupées en MOTU (Molecular Operational Taxonomic Unit, *syn.* OTU) par Swarm afin de regrouper les séquences similaires et d'éliminer les variations nucléotidiques dues à des erreurs de PCR ou de séquençage. Après filtration, chaque MOTU a été automatiquement assigné à des séquences de référence présentes dans la base de données SILVA corrigée la plus récente (rRNA 138.1 Pintail100) par BLASTN+. Cette assignation a permis l'affiliation d'une taxonomie à chaque MOTU. Les séquences chimériques résiduelles non détectées par les étapes précédentes ont été éliminées sur R à l'aide de la fonction *isBimeraDenovo()* du package dada2.

Les données obtenues sont ensuite filtrées davantage conformément à la procédure décrite par (Galan et al. 2016) pour limiter le nombre de faux positifs. Un premier filtre consiste à retirer, pour chaque échantillon, les MOTUs contenant un nombre de séquences inférieur au maximum observé dans les contrôles négatifs (extraction, PCR et indexage). Un deuxième filtre consiste à retirer, pour chaque échantillon, les MOTUs représentés par un nombre de séquences inférieur ou égale à 0.01% (taux de fuite d'index préalablement estimé) du nombre total de ce MOTU dans le run. Enfin, seuls les MOTUs retrouvés dans les deux répliques d'un individu sont conservés et leur nombre de séquences respectives est additionné.

L'emploi de la région 16S-V4 permet généralement l'obtention d'une bonne identification des taxons bactériens à l'échelle du genre (Claesson et al. 2010). Les genres connus pour héberger des pathogènes de rongeurs ou d'humains ont été identifiés à partir de la littérature (Abbate et al. 2024) et de la base GIDEON (<https://www.gideononline.com/>). Seuls les MOTUs correspondant à des bactéries membres de ces genres ont ensuite été conservés. L'emploi de cette région permet aussi parfois d'obtenir une assignation au niveau de l'espèce, notamment pour les bactéries du genre *Mycoplasma* comprenant plusieurs espèces connues pour être des agents pathogènes de rongeurs ou d'humain. Dans ce cas, le niveau taxonomique disponible le plus fin a été conservé.

#### (1) Identification des *Bartonella* spp.

Comme mentionné précédemment, le metabarcoding 16S-V4 ne permet pas d'obtenir une résolution taxonomique au niveau de l'espèce pour tous les genres bactériens d'intérêt. Les bactéries du genre *Bartonella*, reconnues pour leur capacité à infecter les érythrocytes et à présenter une action pathogène, ne sont souvent pas détectées au niveau de l'espèce par cette méthode, bien qu'elles soient fréquemment présentes avec une forte prévalence dans les populations naturelles de rongeurs forestiers européens (Abbate et al. 2024)

Afin d'affiner l'identification des *Bartonella* spp. chez les individus testés positifs au 16S-V4, nous avons utilisé une approche de metabarcoding ciblant les gènes *gltA* et *rpoB*, qui sont couramment utilisés pour caractériser ces bactéries (Kosoy et al. 2018). L'ADN de rate obtenu précédemment a été amplifié par une procédure « 2-step » à l'aide des amorces BhCS.781p : 5'-GGGGACCAGCTCATGGTGG-3' et BhCS.1137n : 5'-AATGCAAAAAGAACAGTAAACA-3' (Norman et al. 1995) pour *gltA* et BartRpoB.1673-F : 5'-CGCATTATGGTCGTATTTGTCC-3' et BartRpoB.2006-R : 5'-CGCATTATGGTCGTATTTGTCC-3' pour *rpoB* (Renesto et al. 2001; Paziewska et al. 2011). La méthode employée repose sur la même approche que celle servant à l'identification des bactéries pathogènes de la rate (*cf.* Partie II.C.2.a.4). L'affiliation taxonomique des MOTUs obtenus a été réalisée par une assignation automatique aux séquences de la base de données *rpoB\_INRA\_122017* pour *rpoB* (Ogier et al. 2019), et par comparaison aux séquences présentes sur GenBank pour *gltA*, via BLASTN+. Cette approche permet une identification précise au niveau de l'espèce ainsi que la détection des co-infections, tout en fournissant des informations sur les différents variants circulant. L'utilisation de deux gènes doit permettre de détecter les situations de recombinaison, le gène *gltA* ayant été identifié comme

sujet à la recombinaison (Kosoy et al. 2018). Jusqu'à présent, cette méthode n'a été appliquée qu'aux individus collectés au printemps 2023.

## (2) Identification des tiques de rongeurs et de leurs agents pathogènes

L'identification des espèces de tiques collectées sur les rongeurs ainsi que la détection de certains de leurs agents pathogènes ont été réalisées à l'aide d'une technique de PCR microfluidique haut débit développée par Michelet et al. 2014 et réalisée à l'ANSES de Maisons-Alfort. Cette méthode permet de détecter la présence de plus de 30 pathogènes différents potentiellement présents dans les tiques, ainsi que de caractériser moléculairement les tiques en se basant sur l'amplification PCR de séquences spécifiques. Pour cela, l'ADN des tiques a été extrait individuellement à l'aide du kit Macherey Nagel DNA Insect. Les pathogènes détectés avec le système microfluidique ont été validés par PCR de confirmation et séquençage pour plusieurs échantillons présentant des valeurs faibles de Ct. Jusqu'à présent, cette méthode n'a été appliquée qu'aux tiques collectés sur les rongeurs piégés au printemps 2023.

### c) Analyse des données

Comme tous les tests diagnostiques nécessaires à l'identification précise de certains agents pathogènes (*Ixodida* et *Bartonella* spp.) n'ont pas encore pu être réalisés, nous avons limité cette analyse préliminaire à l'utilisation des meilleurs taxons disponibles pour l'année 2023.

Afin d'analyser les patrons écoépidémiologiques et l'influence du paysage sur la transmission des pathogènes, nous avons utilisé des modèles linéaires généralisés, suivant la même procédure de sélection que celle décrite dans la partie II.B.

Nous avons employé une régression de Poisson pour modéliser les variations de richesse totale en pathogènes de rongeurs pour chaque site-période. L'inflation en 0 a été contrôlée à l'aide de la fonction *check\_zero\_inflation()* du package *performance* (v. 0.10.2), ce qui nous a amenés à employer un modèle avec excès de zéros via la fonction *zero\_infl()* du package *pscl* (v. 1.5.9), tel que :

$$\text{Richesse} \sim \text{Type de ligne} * \text{Habitat} + \text{Periode}$$

Afin d'identifier les variables jouant un rôle dans la transmission des agents pathogènes de mulot sylvestre, nous avons établi une régression logistique pour chaque agent pathogène ayant une prévalence supérieure à 10%, en incluant des variables liées à l'hôte (sexe, poids) et à son paysage tel que :

$$\text{Infection} \sim \text{Type de ligne} * \text{Habitat} + \text{Periode} + \text{sexe} + \text{poids} + (1|\text{numero de site}).$$

Nous avons également modélisé la probabilité de collecter des tiques à l'affut pour le printemps 2023 à l'aide d'une régression négative binomiale intégrant les modalités du paysage, tel que :

$$\text{Nombre de tiques collectées par site} \sim \text{Type de ligne} * \text{Habitat} + (1|\text{numero de site})$$

Enfin, en adoptant la même démarche que celle utilisée pour les pathogènes identifiés chez les rongeurs, nous avons cherché à examiner comment le paysage influence la prévalence des pathogènes les plus présents dans les tiques recueillies sur les rongeurs du printemps 2023. Les modèles étaient tels que :

$$\text{Infection\_tique} \sim \text{Type de ligne} * \text{Habitat} + \text{Periode} + \text{Espèce de tique} + (1|\text{numero de site}) + (1|\text{individu hôte}).$$

## 3. Résultats préliminaires

### a) Détection et identification des agents pathogènes

#### (1) Dans les rongeurs piégés

Tous les rongeurs piégés ont été criblés pour la détection des *Orthohantavirus* et des *Leptospira* spp. pathogènes et tous ont été testés négatifs.

La méthode de metabarcoding 16S a permis de détecter de manière fiable 6 genres bactériens connus pour héberger des bactéries pathogènes et/ou zoonotiques : *Bartonella*, *Borellia/Borrelia*, *Mycoplasma*, *Neoehrlichia*, *Streptobacillus* et *Treponema*. En tout, 12 taxons bactériens différents ont été identifiés (Tableau 1). Parmi ceux-ci, *Ehrlichia* sp. et *Spiroplasma* sp. ont été détectés avec moins de 500 lectures lors du séquençage, ce qui rend leur détection incertaine.

La méthode de metabarcoding gltA/rpoB a révélé la présence de quatre espèces de *Bartonella* différentes, à savoir *B. birtlesii*, *B. doschiae*, *B. taylorii* et *B. grahamii*. Parmi les rongeurs testés, plus de 65% étaient infectés par plus d'une espèce de *Bartonella* et 27% par trois espèces.

	Printemps 2023	Automne 2023
<i>Mycoplasma</i> sp.	4%	13%
<i>M. haemomuris</i>	22%	18%
<i>M. coccoides</i>	13%	13%
<i>M. penetrans</i> *	4%	0%
<i>Bartonella</i> spp. *	78%	38%
<i>Streptobacillus</i> sp. *	4%	0%
<i>Treponema</i> sp. *	9%	2%
<i>Borrelia</i> sp. *	0%	5%
<i>Borrelia afzelii</i> *	4%	4%
<i>Neoehrlichia mikurensis</i> *	43%	18%
<i>Ehrlichia</i> sp. *	9%	0%
<i>Spiroplasma</i> sp. *	0%	4%
<i>Ixodida</i> spp.	65%	35%
<i>Siphonaptera</i> spp.	44%	11%
<b>Effectif</b>	<b>23</b>	<b>55</b>

**Tableau 1. Prévalences par saison des agents pathogènes des rongeurs piégés en 2023**

\* indique les taxons bactériens connus pour être des agents potentiellement zoonotiques.

## (2) Ectoparasites et leurs agents pathogènes

La collecte de tiques par passage de drap a permis de recueillir un total de 145 nymphes et adultes. Le nombre de tiques collectées au printemps (n = 141) était plus élevé que celui de l'automne (n = 4).

Parmi les 78 rongeurs piégés, 17% étaient porteurs de puces, avec une prévalence plus élevée d'individus parasités au printemps (n = 8, 35%) qu'en automne (n = 6, 10%).

Parmi tous les rongeurs piégés, 50% étaient porteurs de tiques, avec une prévalence plus élevée de parasités au printemps (n = 15, 65%) qu'en automne (n = 24, 43%). La collecte de tiques sur ces rongeurs a abouti à la récupération de 130 spécimens, dont 76 au printemps et 54 en automne. Toutes les tiques collectées au printemps 2023 ont été soumises au criblage par la méthode de PCR microfluidique pour identifier leur

espèce et leurs agents pathogènes. Leur stade a été déterminé visuellement. Parmi celles-ci, 93% (n = 71) étaient des larves, avec seulement 5 nymphes. Les espèces identifiées étaient principalement *Ixodes ricinus* 49% (n = 37), suivies de *Dermacentor marginatus* et de *D. reticulatus* 17% (n = 13). Une seule tique n'a pas pu être identifiée au rang de l'espèce. Toutes les nymphes criblées étaient des *I. ricinus*.

L'utilisation de la puce microfluidique a également permis la détection de 8 taxons bactériens pathogènes zoonotiques et de 2 taxons d'eucaryotes unicellulaires pathogènes (Tableau 2). *Borrelia afzelii* et *Rickettsia* spp. ont été retrouvées dans les trois espèces de tiques identifiées. Tous les spécimens de l'espèce *D. reticulatus* ont été testés positifs à *Francisella tularensis*, qui n'a pas été retrouvée chez les autres espèces.

	<i>Dermacentor marginatus</i>	<i>Dermacentor reticulatus</i>	<i>Ixodes ricinus</i>	
	Larve	Larve	Larve	Nymphe
<i>Borrelia afzelii</i> *	4%	8%	13%	20%
<i>Borrelia lusitaniae</i> *	0%	0%	0%	20%
<i>Ehrlichia</i> .spp *	0%	15%	3%	20%
<i>Neoehrlichia mikurensis</i> *	0%	15%	6%	20%
<i>Rickettsia helvetica</i> *	0%	0%	3%	0%
<i>Rickettsia</i> spp. *	4%	77%	13%	0%
<i>Bartonella</i> spp. *	4%	0%	22%	40%
<i>Francisella tularensis</i> *	0%	100%	0%	0%
<i>Apicomplexa</i> spp. *	0%	0%	9%	0%
<i>Babesia venatorum</i> *	0%	0%	9%	0%
<b>Effectif</b>	25	13	32	5

**Tableau 2. Prévalences des agents pathogènes portés par les tiques collectées sur les rongeurs de 2023**

\* indique les taxons connus pour être des agents potentiellement zoonotiques.

#### b) Analyse des patrons d'agents pathogènes

##### (1) Analyse de la richesse spécifique des pathogènes de rongeurs

La richesse totale en agents pathogènes de rongeurs par site et période a été modélisée à l'aide d'un modèle avec excès de zéro. Le meilleur modèle issu de la sélection contient uniquement la variable « type de site » en effet fixe (AICc = 176,6,  $\Delta = 0$ ), mais cette variable n'a pas d'effet significativement explicatif sur le modèle (LRT = 7,92,  $p = 0,095$ ).

##### (2) Dans les populations de *A. sylvaticus*

En 2023, 6 taxons d'agents pathogènes ont un seuil de prévalence supérieur à 10% : *M. haemomuris*, *M. coccoides*, *Bartonella* spp., *Ixodida* spp., *Siphonaptera* et *Neoehrlichia mikurensis*. Des modèles de régression logistique ont été utilisés pour analyser la probabilité d'infection du mulot sylvestre par ces parasites (Tableau 3)

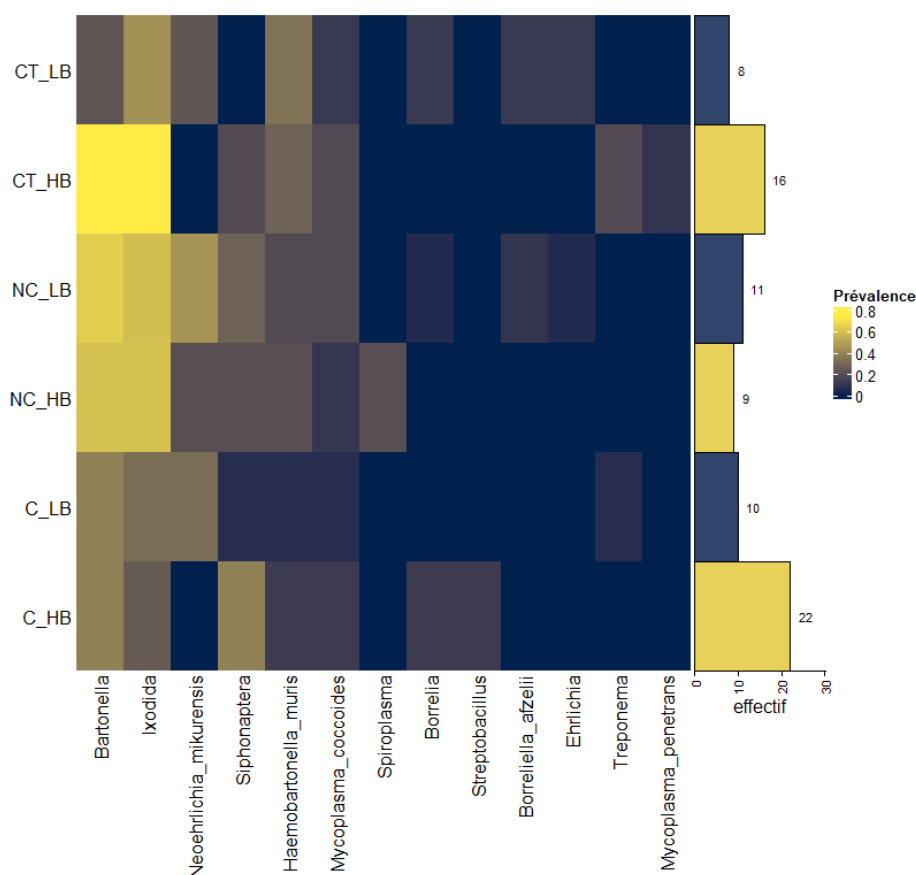
Pour *Ixodida*, le modèle nul s'avère être le plus parcimonieux. Les variables incluses dans le modèle global ne semblent donc pas avoir d'impact sur la probabilité d'infection du mulot par les tiques.

Au sein de presque tous les modèles les plus parcimonieux identifiés, le poids est systématiquement ressorti comme une variable ayant un impact significatif sur la probabilité d'être infecté. Les coefficients estimés pour le poids suggèrent que les individus les plus lourds ont une plus grande probabilité d'être infectés.

Modèle globale					Modèle sélectionné		
Variable dépendante	Effets fixes	Effet aléatoire	Effectif total	Effectif positif	AICc ( $\Delta$ )	Variables du meilleur modèle	LRT $p$
<i>Mycoplasma haemomuris</i>	Sexe			14		Poids	11,9 0,0005
	Période				67,1 (0)	Type de site	6,6 0,035
<i>M. coccoides</i>	Poids			10	59,8 (0)	Poids	5,1 0,023
<i>Bartonella</i> spp.	Type de site			39	89,1 (0,55)	Poids	12,2 0,0005
	Quantité de feuillu					Période	11,1 0,0009
<i>Ixodida</i> spp.	Interaction type-quantité	N° site	76	37	-	-	- -
<i>Siphonaptera</i> spp.				14	73 (0,11)	Période	5,1 0,023
						Poids	14,5 0,0001
<i>Neoehrlichia mikurensis</i>	Idem, sans l'interaction			19	63,8 (0)	Période	9,07 0,002
						Quantité de feuillu	6,44 0,011

**Tableau 3. Sélection de modèles destinés à l'évaluation de la probabilité d'infection chez *A. sylvaticus***

Plusieurs pathogènes semblent également impacter par la période d'échantillonnage. Avec une prévalence moins importante en automne 2023 qu'au printemps pour *Bartonella* spp. ( $Z$  ratio = 2,99,  $p$  = 0,002), *Siphonaptera* spp. ( $Z$  ratio = -2,25,  $p$  = 0,025) et *Neoehrlichia mikurensis* ( $Z$  ratio = -2,66,  $p$  = 0,007). La quantité de feuillus autour des haies semble également impacter la probabilité d'infection à *Neoehrlichia mikurensis*, avec une probabilité plus grande dans les sites pauvres en feuillus ( $Z$  ratio = 2,31,  $p$  = 0,02). Enfin pour *M. haemomuris*, le type de site semble jouer un rôle significatif dans le modèle. Les individus des lisières de pins semblent avoir tendance à être plus infectés que les autres (Figure 4). Cependant, les tests pos-hocs ne montrent pas de différence de moyennes significatives entre paires de modalités.



## Figure 4. Prévalence des agents pathogènes de mulots sylvestres par condition paysagère

Les prévalences sont calculées à partir de tous les mulots sylvestres piégés en 2023. L'échantillonnage est composé de 36 sites de 6 combinaisons de modalités. Les sites sont définis par leurs modalités paysagères, tel que : *CT* : lisières de pin contrôles, *NC* : haie non-connectée, *C* : haie connectée, *LB* : habitat pauvre en feuillus, *HB* : habitat riche en feuillus.

### (1) Distribution des tiques à l'affut

Une régression négative binomiale a été modélisée pour analyser le nombre de tiques piégées au drap. A l'issue de la sélection de modèles, un unique modèle est obtenu et contient uniquement la variable type de ligne comme effet fixe (LRT = 10,22,  $p = 0,006$ ). Le nombre de tiques à l'affut collecté n'est pas significativement différent entre les haies connectées et non connectées (Z ratio = -0,34,  $p = 0,94$ ), mais est significativement plus petit dans les lisières de pins ( $C - CT$  : Z ratio = 2,83,  $p = 0,013$  et  $CT - NC$  : Z ratio = -3,25,  $p = 0,003$ ) et au printemps.

### (2) Distribution des agents pathogènes de tiques

Au sein des tiques collectées sur les rongeurs au printemps, 4 taxons bactériens pathogènes ont un seuil de prévalence supérieur à 10% : *Borrelia* spp., *Rickettsia* spp., *Bartonella* spp. et *Francisella tularensis*. Des modèles de régression logistique ont été utilisés pour estimer la probabilité d'infection des larves et nymphes de tiques par ces parasites (Tableau 4). Le déséquilibre des données a conduit au retrait de la variable informant de l'espèce de la tique pour deux des modèles globaux.

Modèle globale				Modèle sélectionné				
Variable dépendante	Effets fixes	Effet aléatoire	Effectif total	Effectif positif	AICc ( $\Delta$ )	Variables du meilleur modèle	LRT	$p$
<i>Borrelia</i> spp.	Type de site Quantité de feuillus Interaction type-quantité			8	-	-	-	-
<i>Rickettsia</i> spp.	Espèce de tique	N° site	75	15	56,4 (0,3)	Espèce de tique	25,3	< 10e-6
<i>Bartonella</i> spp.	Idem, sans espèce de tique			10	-	-	-	-
<i>Francisella tularensis</i>				13	-	-	-	-

**Tableau 4. Sélection de modèles destinés à l'évaluation de la probabilité d'infection chez les tiques collectées sur les rongeurs au printemps 2023**

Pour la plupart des variables dépendantes, la sélection de modèle a abouti à choisir le modèle nul. Les variables incluses dans ces modèles globaux ne semblent donc pas avoir d'impact sur la probabilité des tiques d'être infectées.

Pour *Rickettsia* spp. seulement, un effet fixe du modèle global a été conservé à l'issue de la sélection de modèles. L'espèce de la tique expliquait significativement la probabilité d'infection (LRT = 25,33,  $p < 10^{-6}$ ), avec une probabilité plus grande d'infection chez *D. reticulatus* que les autres espèces de tiques ( $p < 0,001$ ).

## 4. Discussion

Nos résultats ont permis l'obtention d'une vue globale des agents pathogènes de rongeurs circulant dans la forêt des Landes et ont permis d'identifier les agents zoonotiques qui pourraient contribuer au risque de transmission aux humains dans la région.

Contrairement à ce qui était attendu, nous n'avons pas observé d'influence significative du paysage sur la richesse des communautés de parasites de rongeurs. Ce phénomène peut partiellement s'expliquer par le fait que la richesse des communautés de petits-mammifères ne semble pas varier entre les différentes conditions du paysage (Partie II.B).

Pour le moment, aucun des agents pathogènes identifiés n'est assimilé à une transmission horizontale directe connue. Les tests de détection des *Leptospira* spp. et des *Orthohantavirus* n'ayant pas permis la détection d'individus positifs. Par conséquent, nous n'avons pas été en mesure de tester notre hypothèse concernant la relation positive entre les habitats favorables et la prévalence de ces agents pathogènes.

La plupart des agents pathogènes identifiés sont connus pour être, au moins en partie, transmis par des vecteurs. Les bactéries des genres *Borrelia* et *Neoehrlichia* sont principalement transmises par les tiques, tandis que les *Bartonella* spp. peuvent être transmises par les puces. Parmi les taxons identifiés le genre *Mycoplasma* comprend des bactéries particulièrement diversifiées. Certaines présentent un tropisme sanguin (p. ex *M. haemomuris* et *M. coccoides*) tandis que d'autres ont un tropisme des voies respiratoires (p. ex *M. pulmonis*). Globalement, leur mode de transmission dans la faune est encore mal compris et pourrait impliquer à la fois une transmission par vecteurs et par contact direct (Cohen et al. 2018).

Nous avons constaté que le poids était un bon estimateur de la probabilité d'infection par les agents pathogènes les plus courants chez *A. sylvaticus*. Ce résultat est un phénomène attendu, car le poids est en partie lié à l'âge et à la maturité sexuelle des rongeurs. Ainsi, les individus plus lourds ont tendance à adopter des comportements qui les exposent davantage et sont également plus susceptibles d'avoir contracté une infection persistante au cours de leur vie. Nous avons également observé une influence négative de la période sur la probabilité d'infection de certains agents. Cette tendance pourrait s'expliquer en partie par le fait que cette saison contient généralement davantage de jeunes adultes que le printemps (Henttonen 2022) et que cette saison semble moins propice à la circulation des vecteurs.

Seul *N. mikurensis* a montré un lien significatif entre le paysage et sa transmission, avec une probabilité d'infection plus faible dans les zones riches en feuillus. *M. haemomuris* a également tendance à avoir une probabilité d'occurrence plus faible dans les haies que dans les lisières, bien que les différences moyennes marginales ne soient pas statistiquement significatives. Ces résultats suggèrent que la prévalence de certains agents pathogènes pourrait être réduite dans les paysages plus favorables, peut-être en raison d'un effet de dilution ou d'une intégrité fonctionnelle moins altérée.

Nous anticipions une présence accrue de tiques dans les paysages densément boisés et connectés par des feuillus, et effectivement, nous avons constaté que les haies abritaient un nombre plus élevé de nymphes et de larves à l'affût que les lisières, pour le printemps. Cette observation peut être expliquée par le fait que les haies de feuillus maintiennent probablement des conditions microclimatiques plus propices au développement et à l'activité de chasse des tiques, et qu'elles pourraient être plus fréquentées par les ongulés. Nous n'avons cependant pas observé d'effet du paysage sur la probabilité des rongeurs d'être infectés par les larves.

Contrairement à nos attentes, le paysage n'a pas montré d'influence significative sur les pathogènes retrouvés dans les tiques criblées à la puce microfluidique. Il faut toutefois noter que les prévalences différentes observées entre les milieux forestiers dans la littérature ont été observées pour les tiques à l'état de nymphe, alors que nous avons ici réalisé les analyses sur une très large majorité de larves. Les processus conduisant à l'infection des larves sont différents de ceux des nymphes, ce qui pourrait expliquer cette observation. Les analyses futures qui seront réalisées sur les nymphes et les adultes collectés au drapeau pourront nous indiquer si ce constat est dépendant du stade ou s'il est lié au contexte paysager.

Nous avons pu constater des différences de patrons de pathogènes marquées entre espèces de tiques. Les *Rickettsia* spp. ayant notamment été plus associées aux larves de *D. reticulatis* qu'aux autres espèces. *Francisella tularensis* a également été identifiée dans ces larves uniquement et avec une prévalence impressionnante de 100%.



## 5. Perspectives

Les tests diagnostiques visant à la détection des agents pathogènes n'ont pas tous été réalisés, notamment ceux devant être réalisés par nos partenaires européens dans le cadre du projet. Ces tests fourniront des informations sur la présence d'autres taxons (*p. ex Betacoronavirus*, *Orthopoxvirus*, virus West Nile et Usutu) ainsi que sur l'identification spécifique de certains genres bactériens circulant (*p. ex Borrelia*). Le metabarcoding *gltA/rpoB* et le criblage des tiques par puce microfluidique doivent également être poursuivis pour les échantillons de l'automne.

L'acquisition de ces données est essentielle pour une compréhension fine des schémas écoépidémiologiques. En effet, il est possible que certains patrons varient en fonction des échelles taxonomiques considérées. Certains taxons pouvant notamment englober des pathogènes aux modes de vies très différents (*p. ex les Mycoplasma*)

En outre, la collecte de ces nombreuses informations pourrait permettre d'explorer l'existence d'associations entre différents agents pathogènes et d'expliquer certains schémas de circulation. Les interactions entre les parasites jouent un rôle majeur dans leur distribution (Telfer et al. 2010), et la prise en compte de l'ensemble des pathogènes du système pourrait contribuer à expliquer leur distribution réciproque grâce à des outils d'analyse des schémas épidémiologiques (voir HMSC, Partie II.D). Parmi les parasites déjà caractérisés, il a déjà été montré que les *Bartonella* spp. pouvaient influencer la probabilité d'infection des autres agents pathogènes (Telfer et al. 2010).

L'expansion de l'échantillonnage aux îlots forestiers (évoquée Partie II.B.5) permettra également de comparer les patrons de circulations dans des paysages plus contrastés.

### D. Troisième axe : Caractérisation des traits de vie et de leurs relations avec les agents pathogènes et le paysage.

#### 1. Introduction

Les caractéristiques du paysage sont susceptibles d'influencer l'intégrité fonctionnelle des individus en conditionnant leur exposition aux stress et en entraînant l'altération de certains de leurs traits.

Les individus sont continuellement soumis à une diversité de contraintes externes et internes capables de perturber leur homéostasie. L'homéostasie est le processus général par lequel les individus maintiennent leurs variables corporelles dans un état stable au moyen d'actions de régulation physiologique ou comportementale. Le terme de « stress » désigne les stimuli qui surchargent la capacité de réponse du système homéostatique et impactent négativement la condition physique ou sont susceptibles de le faire (Broom et Johnson 2019).

Le paysage influence la nature et l'intensité des interactions entre les organismes qui y vivent. Certaines interactions antagonistes, comme la compétition ou la prédation, peuvent constituer des stress de plus ou moins long terme. Par exemple, un événement de prédation peut provoquer un stress aigu aux conséquences variables, tandis qu'une exposition continue à la présence de prédateurs ou à des signaux de prédation peut entraîner des effets physiologiques négatifs durables (Clinchy, Sheriff, et Zanette 2013).

Les caractéristiques du paysage déterminent également la quantité et la qualité des ressources disponibles pour les individus. Un paysage défavorable peut notamment engendrer un stress par une restriction alimentaire prolongée susceptible d'impacter négativement l'état physiologique. Les dégradations physiologiques dues aux stress et les mécanismes de réponse aux stress peuvent conduire à des compromis qui influencent l'investissement des individus dans diverses fonctions immunitaires (Martin 2009). Ainsi, le paysage peut altérer la capacité des individus à se défendre contre les agents pathogènes en modulant leur exposition aux différents stress.

L'effet du paysage sur la disponibilité des ressources peut aussi influencer la composition du régime alimentaire. De fait, la plasticité alimentaire est essentielle pour la survie des organismes dans des

environnements changeants et les espèces généralistes sont souvent caractérisées par des régimes plastiques (Abbas et al. 2011). Les changements dans le régime alimentaire peuvent entraîner des modifications dans les micro et macronutriments ingérés, nécessaires au maintien d'un bon état physiologique et immunitaire. Ces modifications peuvent également impacter la composition du microbiome intestinal, comme observé par Sugden et al. (2020) où les coyotes consommant plus d'aliments d'origines humaines présentent des microbiomes plus diversifiés associés à un état physiologique dégradé.

Le microbiome intestinal joue un rôle central dans l'intégrité fonctionnelle des organismes. Il assure et soutient de nombreuses fonctions essentielles telles que la digestion et la régulation du système immunitaire (Barko et al. 2018). Par ces mécanismes, le microbiome contribue activement à l'intégrité physiologique et à la protection contre les agents pathogènes. Il joue également un rôle direct dans la protection au travers des interactions qu'il entretient avec ces agents. Il peut notamment améliorer la protection contre la colonisation des agents pathogènes entériques en produisant des métabolites antimicrobiens et en entretenant une compétition pour les nutriments. (Belkaid et Hand 2014). Les microbiomes les plus diversifiés sont notamment susceptibles de conférer une meilleure protection contre la colonisation en consommant une gamme plus vaste de nutriments dont les agents pathogènes pourraient avoir besoin (Spragge et al. 2023).

Les modifications de régime alimentaire (Sugden et al. 2020) et les stress (Stothart, Palme, et Newman 2019) peuvent altérer la composition des communautés bactériennes, entraînant ainsi des changements dans l'immunité. Par exemple, Fleischer et al. (2024) ont observé que les chauves-souris vampires se nourrissant préférentiellement sur des animaux sauvages hébergeaient des microbiomes contenant des bactéries associées à des niveaux d'immunoglobuline G plus élevés que celles se nourrissant sur des animaux domestiques. Une altération au-delà de la plage « normale » (*syn.* homéostatique) des communautés bactériennes peut entraîner une situation de dysbiose, c'est-à-dire un appauvrissement de la diversité en bactéries commensales et mutualistes, susceptible de dégrader la condition physique et d'augmenter la sensibilité aux agents pathogènes (Petersen et Round 2014).

Il est essentiel de mieux comprendre comment les caractéristiques du paysage affectent les différents aspects de l'intégrité fonctionnelle, car ces facteurs peuvent jouer un rôle déterminant dans la propagation des agents pathogènes au sein de la faune sauvage. Cette compréhension revêt une importance particulière pour les espèces généralistes, qui ont la capacité de persister dans les environnements altérés par l'activité humaine et qui sont souvent les hôtes d'agents pathogènes zoonotiques.

Le mulot sylvestre (*A. sylvaticus*), en tant que rongeur généraliste forestier est notamment porteur de nombreux agents pathogènes et zoonotiques (*cf* Partie II.C). Principalement granivore, il se nourrit également d'autres aliments, dont des invertébrés. Son régime alimentaire varie avec les saisons, avec une augmentation de la consommation d'aliments d'origine animale au printemps et au début de l'été, probablement en réponse à la disponibilité fluctuante en graines (Watts 1968; S. S. J. Montgomery et Montgomery 1990). Son microbiome intestinale est également soumis à des fluctuations de composition entre les saisons qui pourraient être liées à ce passage d'une alimentation à base de plantes vers un régime à base d'insectes (Maurice et al. 2015; Marsh et al. 2022).

En cherchant à comparer le régime alimentaire du mulot dans les forêts de feuillus et de conifères S. S. J. Montgomery et Montgomery (1990) ont observé que les mulots consommaient plus fréquemment de la nourriture d'origine animale dans les forêts de conifères, potentiellement pour compenser la pénurie de graines dans ces milieux. De plus, Navarro-Castilla et Barja (2019) ont constaté que les mulots des forêts de pins présentaient des niveaux de réponse adrénocorticale au stress plus élevés que ceux des forêts de feuillus, probablement du fait d'une moindre disponibilité en ressources alimentaires et en abris végétaux. Dans notre zone d'étude, les lisières de pins présentent une diversité végétale moindre que les haies, et la proportion de feuillus environnants semble influencer la composition des communautés végétales (données non-publiées, Plat 2024). Ces variations dans la composition végétale pourraient potentiellement influencer le régime alimentaire du mulot, ainsi que son exposition au stress, ce qui pourrait à son tour impacter son intégrité fonctionnelle.

Dans ce cadre global, nous chercherons à étudier l'influence des caractéristiques paysagères sur les traits du mulot (régime alimentaire, microbiome, physiologie, immunité) et les interactions qu'ils entretiennent. Nous chercherons également à explorer comment les variations de ces traits influent sur la présence et la prévalence des agents pathogènes. Nous formulons ainsi l'hypothèse que les paysages de lisières et les zones pauvres en feuillus constituent des habitats moins propices au mulot sylvestre, ce qui pourrait entraîner une altération de son intégrité fonctionnelle et favoriser les infections par des agents pathogènes.

## 2. Approches développées

Les stratégies expérimentales et analytiques nécessaires pour atteindre les objectifs de cet axe de thèse sont actuellement en discussion. Ce premier comité de suivi de thèse devrait permettre d'échanger sur les meilleures approches disponibles à mettre en œuvre dans le cadre du nouveau plan d'échantillonnage, incluant les nouveaux ilots de feuillus sélectionnés (cf. Partie II.B.5). Certaines méthodologies pouvant potentiellement exiger de nouveaux prélèvements d'échantillons, le choix final de leur utilisation devra être déterminé avant la prochaine campagne d'échantillonnage prévue en juin 2024.

La plupart des méthodes utilisées pour caractériser la composition du microbiome et le régime alimentaire du mulot sylvestre ont déjà été établies. Ces méthodes ont été appliquées aux échantillons collectés en 2023 (lors de l'échantillonnage sans les ilots) et seront bientôt analysées pour obtenir un aperçu préliminaire de la réponse de ces traits aux caractéristiques du paysage. Ces méthodes seront présentées dans la partie II.D.2

Les approches pour caractériser les variations physiologiques et immunitaires des individus doivent encore être définies. L'acquisition de ces informations est cruciale pour une compréhension complète des processus liés à l'altération de l'intégrité qui conduisent à l'observation de variations de prévalence. Plusieurs méthodologies potentiellement applicables à notre cadre d'étude ont été identifiées. L'application des méthodes envisagées a été discutée dans la partie II.D.3

### a) *Caractérisation de la composition du régime alimentaire par metabarcoding*

Nous avons utilisé une technique de metabarcoding ciblant le gène COI pour les invertébrés et *rbcL* et *matK* pour les plantes afin d'analyser la composition du régime alimentaire des rongeurs capturés. Pour cela, les fèces présentes dans les tubes digestifs stockés en alcool ont été utilisés. L'ADN d'une fèces par rongeur a été extrait à l'aide du kit Qiagen (DNeasy® 96 Blood & Tissue). Les régions cibles ont été amplifiées à l'aide d'une procédure « 2-step » grâce aux amorces MG2-LCO1490 et MG2-univR pour COI (Galan et al. 2018), *rbcLZ1aF* et *h2aR* pour *rbcL* (Poinar et al. 1998; Hofreiter et al. 2000) et *matK2-F* et *matK2-R* pour *matK*. Chaque échantillon a été amplifié indépendamment trois fois. La procédure de metabarcoding employée est similaire à celle décrite pour l'identification des bactéries pathogènes de la rate (cf. Partie II.C.2.b). L'affiliation taxonomique des MOTUs obtenus a été réalisée par une assignation automatique aux séquences de la base de données BOLD (COI\_BOLD\_082023) pour COI, *rbcL\_KBell\_plant\_2021-07* pour *rbcL* et via comparaison aux séquences de GenBank pour *matK*.

En raison de la résolution taxonomique limitée obtenue avec les marqueurs de plantes, nous envisageons de construire nos propres bases de données pour les gènes *rbcL* et *matK*. Ces bases regrouperaient les séquences des espèces de plantes identifiées par l'Inventaire national du patrimoine naturel pour le Parc naturel régional des Landes de Gascogne. En comparant nos propres séquences à celles contenues dans ces bases de données, nous pourrions affiner les classifications taxonomiques en réduisant les associations multiples.

La région du gène COI utilisée permet également d'obtenir l'identité moléculaire de l'espèce prédatrice (Galan et al. 2018). L'ADN des pattes ou des fèces des insectivores a également été extrait puis amplifié avec ce gène afin de les identifier. Lorsque l'ADN provenait de fèces, cette méthode a aussi permis d'identifier les invertébrés consommés par les insectivores.

#### *b) Caractérisation de la composition du microbiome bactérien intestinal*

Nous avons caractérisé la composition du microbiome bactérien intestinal par une approche de metabarcoding 16S-V4 pour chacun des rongeurs piégés. A cet effet, un fragment de 5 mm de colon, prélevé du tube digestif stocké dans l'éthanol 70% de chaque individu, a été vidé de son contenu, et son ADN extrait à l'aide du kit Qiagen (DNeasy® 96 Blood & Tissue). La suite du protocole est identique à celui employé pour l'identification des bactéries pathogènes de la rate (*cf.* Partie II.C.2.b).

Le microbiome bactérien intestinal a également été analysé selon cette procédure à partir de l'ADN fécal extrait précédemment pour la caractérisation du régime alimentaire (*cf.* Partie II.D.2.a). La caractérisation de ce microbiome doit permettre, à termes, de comparer les informations obtenues à l'issu d'un échantillonnage destructif, d'un échantillonnage potentiellement non-invasif (Partie II.E).

#### *c) Analyses statistiques envisagées*

Les analyses mises en place chercheront dans un premier temps à décrire et à expliquer les variations du régime alimentaire et du microbiome du mulot sylvestre, en lien avec le paysage.

Pour cela, des indices de diversité alpha (richesse en OTUs, indice de Shannon, diversité phylogénétique de Faith) seront calculés pour chaque individus et type de données. Des modèles linéaires généralisés seront ensuite employés pour tester l'influence du paysage sur ces indices. Des indices de diversité bêta (Jaccard, Bray-Curtis, UniFrac pondéré et non pondéré) seront également calculés. Des tests par permutations (PERMANOVA et PERMDISP) permettront de tester l'influence du paysage sur la composition du microbiome et du régime alimentaire. En cas de différences, nous pourrions identifier les taxons les plus associés à certains groupes avec l'ANCOM (ANalysis of COmposition of Microbiomes). L'emploi de test de Mantel et de db-RDA pourrait servir à comparer les matrices de dissimilarité correspondant au microbiome et au régime alimentaire.

Nous pourrions ensuite utiliser PICRUST2 pour chercher à prédire les fonctions associées à chaque taxon bactérien retrouvé dans le microbiome. Les variations liées au régime alimentaire pourraient notamment impliquer des fonctions différentes pour la digestion des aliments (Kohl et al. 2022). Les analyses appliquées pour la diversité taxonomique pourraient également s'appliquer pour évaluer les variations de la diversité fonctionnelle du microbiome (Bouilloud et al. 2024).

Ensuite, nous explorerons l'impact des divers traits collectés sur la présence et la prévalence des parasites. Nous examinerons si certaines co-infections sont liées à des changements dans la composition et/ou la variabilité du microbiome, ce qui pourrait indiquer des situations de dysbioses potentielles (Schmid et al. 2022). Nous évaluerons également si les caractéristiques du paysage influencent les réseaux d'associations entre le microbiome et les pathogènes.

Une modélisation par HMSC (Hierarchical Modelling of Species Communities, Ovaskainen et al. 2017) pourra être appliquée à nos matrices d'occurrences d'agents pathogènes pour expliquer leurs distributions et celle des co-infections (*p. ex* Sluydts en préparation).

Enfin, des modèles d'équations structurelles (SEM) pourront être utilisés afin d'explorer les relations de causalités entre nos différentes variables, ainsi que leurs relations indirectes (Schwensow et al. 2022). Ce type de méthode a notamment déjà pu être employée pour estimer les liens de causes entre composition alimentaire, microbiome et la prévalence d'un agent pathogène entérique (Murray et al. 2020).

### 3. Approches expérimentales supplémentaires envisagées

#### a) *Analyse des Isotopes Stables (SIA)*

L'intégration de la méthode d'Analyse des Isotopes Stables (*syn.* SIA) pourrait compléter les informations fournies par le metabarcoding en fournissant des détails supplémentaires sur le régime alimentaire. (Bonin et al. 2020). Alors que le metabarcoding permet une identification précise des espèces consommées, il ne fournit pas d'informations sur la quantité consommée pour chaque type d'aliment. L'emploi de la SIA permettrait d'estimer les contributions relatives de différentes sources alimentaires dans le régime (*p. ex* grâce à l'emploi de modèles de mélanges via le package MixSIAR). De plus, le metabarcoding utilise des échantillons de matières fécales, ce qui limite l'information sur l'alimentation aux repas récents, et pourrait générer des biais lors de l'utilisation d'appât. La SIA peut être appliquée à différents substrats (*p. ex* à partir de poils ou d'organes) et couvrir une fenêtre temporelle plus longue. La capacité de la SIA à fournir des informations sur une période plus étendue pourrait donc faciliter la mise en évidence de différences de régime alimentaire entre les différentes conditions paysagères.

La méthode étant utilisée par certains de nos partenaires européens dans leurs travaux de recherche, nous pourrions profiter de cette opportunité et de leur savoir-faire pour appliquer cette méthode à notre cadre d'étude.

#### b) *Analyse transcriptomique*

Une analyse transcriptomique (RNA-seq) doit être effectuée sur les échantillons de rate par l'un de nos partenaires européens. Nous envisageons d'exploiter ces données pour identifier les gènes et les réseaux de gènes exprimés de manière différentielle en fonction des diverses conditions paysagères. Certains gènes d'intérêt liés au système immunitaire ou au métabolisme pourraient être spécifiquement ciblés. Cette approche pourrait offrir une perspective globale et sans *a priori* sur la manière dont les hôtes réagissent aux changements dans leur environnement, tant d'un point de vue physiologique que lié à l'immunité.

#### c) *Effecteurs de l'immunité et/ou marqueurs généraux de l'état physiologique*

Une alternative à l'approche transcriptomique est la quantification des protéines, des métabolites ou des cellules impliquées dans les fonctions physiologique et/ou immunitaire. Cette approche examine les produits finaux de l'expression génique, offrant ainsi une perspective directe sur l'état de l'individu. Cependant, en raison de la complexité des systèmes étudiés et de l'absence d'*a priori* sur les réponses attendues, cette approche peut nécessiter d'employer des marqueurs généraux de réponses ou de multiplier les mesures pour appréhender les variations fonctionnelles. De plus, dans le cadre de l'étude sur des organismes « non-modèles », l'utilisation de certaines de ces méthodes peut être limitée en l'absence de réactifs adaptés (Pedersen et Babayan 2011). Un grand nombre de méthodes a été observé dans la littérature (décrites de manière non-exhaustive ci-dessous), mais les méthodes les plus pertinentes à utiliser dans le cadre du projet de thèse restent à élucider.

##### (1) De la physiologie

Le poids et le ratio poids/corps sont souvent utilisés comme indicateurs de la condition physique, mais ils ne fournissent pas une image complète de l'état de santé. En effet, ils ne sont pas toujours liés à la quantité de réserves énergétiques et des valeurs faibles de poids (malnutrition) comme élevées (obésité) peuvent être associées à des conditions sous-optimales (Wilder, Raubenheimer, et Simpson 2016).

Pour obtenir une vision plus précise de l'état physiologique, il est possible de se tourner vers des marqueurs physiologiques obtenus à partir d'échantillons de sang. Par exemple, une faible numération des lymphocytes périphériques peut indiquer une immunosuppression, tandis qu'une faible numération des globules rouges peut signaler une anémie, révélant une capacité aérobie réduite (Beldomenico et al. 2008).

Certains indicateurs peuvent également être les témoins, non pas de l'état physiologique effectif, mais de l'expression de la réponse de l'organisme aux contraintes susceptibles d'entraîner une dégradation de leur état (quantification de la réponse aux stress). C'est le cas de la concentration en glucocorticoïdes, des hormones produites par la voie adrénocorticale de réponse aux stress. Cette concentration peut être mesurée dans divers substrats tels que les fèces, le sang ou les poils, fournissant des informations sur la réponse au stress sur une

période plus ou moins longue avant la mesure (Gormally et Romero 2020). L'utilisation de substrats reflétant une exposition prolongée aux glucocorticoïdes (*p. ex* les poils) peut être particulièrement pertinente pour évaluer une exposition prolongée au stress susceptible d'altérer l'intégrité fonctionnelle (Martin 2009). De plus, le substrat choisi et collecté pourrait également être utilisé dans l'analyse SIA visant à caractériser le régime alimentaire (*cf.* Partie II.D.3.a).

## (2) De l'immunité

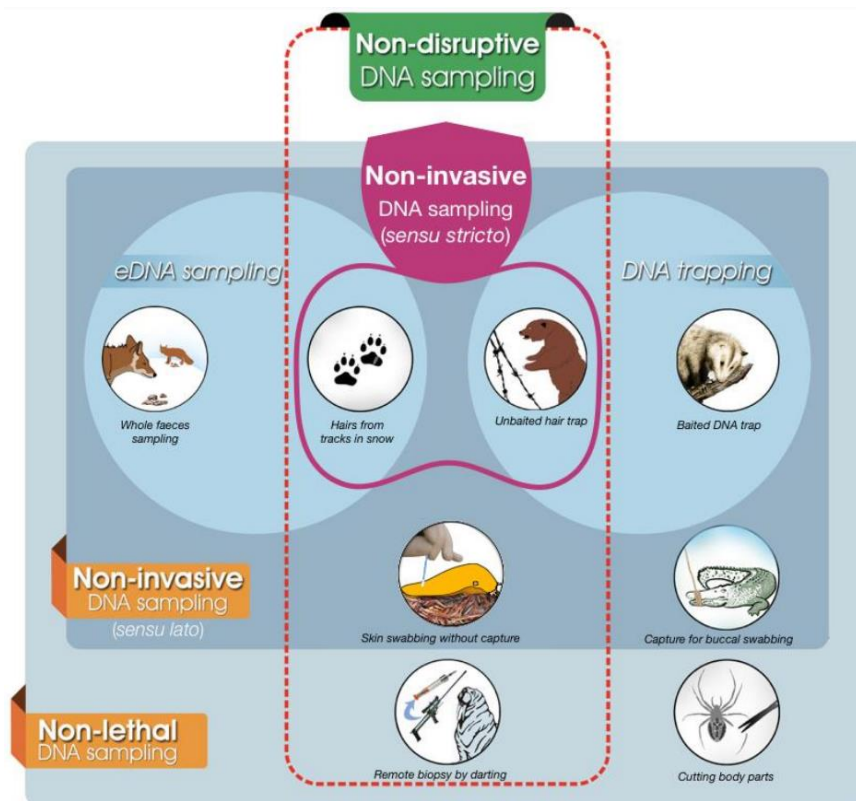
Dans le cadre de l'estimation de l'état de l'immunité, des tests descriptifs (*c.-à-d* mesurant un composant immunitaire à un temps donné) et/ou fonctionnels (*c.-à-d* mesurant la réponse du système face à une exposition) pourraient être mis en œuvre. Plusieurs de ces tests peuvent être réalisés à partir d'échantillons sanguins ou de leurs dérivés. Par exemple, la quantification et la caractérisation des leucocytes fournissent des informations descriptives sur les composants cellulaires de l'immunité, qu'elle soit adaptative ou innée. De même, la quantification des IgG dans le sang peut servir d'indicateur descriptif de l'immunité humorale adaptative, comme utilisé dans une étude récente sur le mulot sylvestre (Sweeny et al. 2021). Un autre test potentiellement pertinent est le test fonctionnel d'héماغglutination-hémolyse (HAHL) qui mesure l'activité du système humoral inné en quantifiant l'activité du système du complément ainsi que des anticorps naturels. L'utilisation de ces marqueurs immunitaires hématologiques nécessiterait cependant la collecte et le conditionnement d'un nouveau type d'échantillon. La collecte de sang pourrait être complexe en raison de la petite taille de certains individus.

En outre, des marqueurs provenant d'autres substrats peuvent également être utilisés, comme la quantification des IgA fécaux qui a déjà été utilisé pour le mulot (Sweeny et al. 2021). Les IgA sont les principaux anticorps produits par l'organisme et jouent un rôle indispensable dans la structuration du microbiome et la protection des muqueuses face à certains agents pathogènes (*p. ex* les helminthes gastro-intestinaux).

## E. Quatrième axe : Exploration de méthodes de suivi non-perturbantes

### 1. Introduction

Il existe une vaste gamme de méthodologies employées pour le suivi de la faune sauvage et de leurs agents infectieux. Ces approches vont de la méthode létale (*syn.* destructive) impliquant la capture et le sacrifice d'individus, à des méthodes non destructives plus ou moins invasives *sensu lato* (*c.-à-d* altérant l'intégrité physiologique) et perturbantes (*c.-à-d* altérant la valeur sélective ou le comportement) (Lefort et al. 2022). Par exemple, la capture d'individus pour marquage et recapture est une méthode non létale souvent invasive et perturbante, tandis que la détection de traces d'ADN dans l'environnement (ADNe) est non invasive et la plupart du temps non perturbante (Figure 5).



**Figure 5. Représentation des statuts des différentes méthodologies utilisées dans le suivi de la faune sauvage (Lefort et al. 2022)**

Le choix d'une méthode appropriée dépend de divers facteurs, tels que les objectifs de recherche, les espèces concernées, les contraintes logistiques et l'impératif éthique. Le cadre des "3R" (réduire, remplacer et raffiner), qui vise à réduire au minimum notre influence sur le bien-être animal, stipule notamment que les techniques ayant l'impact le plus faible doivent être utilisées dans la mesure du possible. Dans ce cadre, les méthodes les moins invasives et perturbantes sont à privilégier si elles permettent l'obtention d'informations équivalentes (Zemanova 2020).

Les processus écologiques sont des phénomènes dynamiques qui nécessitent une observation longitudinale pour être pleinement appréhendés. Lors de la restauration ou la dégradation des écosystèmes, les conditions abiotiques et biotiques évoluent progressivement, créant des situations favorables ou défavorables à la biodiversité. Ces changements peuvent ainsi influencer progressivement la composition des communautés d'hôtes, ce qui peut conduire à l'observation de variations temporelles du danger zoonotique (Prist et al. 2023). L'utilisation de méthodes de suivi de la biodiversité efficaces et continues serait donc essentielle pour obtenir une meilleure compréhension de la réponse de la biodiversité et des communautés d'espèces hôtes aux modifications paysagères, et ainsi mieux appréhender le danger zoonotique associé à ces changements.

Dans le cadre de l'étude sur la biodiversité des petits mammifères, le recours au piégeage demeure la méthode la plus répandue. Toutefois, le piégeage est une méthode très invasive. Même lorsqu'elles n'aboutissent pas à l'euthanasie, les captures successives peuvent conduire à une détérioration de l'état général ou à une diminution de la mobilité des individus piégés (Zemanova 2020). De plus, le choix du type de piège, de l'appât et du plan d'échantillonnage peut influencer la probabilité de détection de certaines espèces (Harkins, Keinath, et Ben-David 2019). En outre, le piégeage peut exiger des campagnes d'échantillonnage étendues et coûteuses, nécessitant une main-d'œuvre qualifiée et une maintenance importante. Ces problématiques peuvent rendre les suivis de la biodiversité difficiles à réaliser, bien qu'ils soient cruciaux pour la mise en œuvre d'efforts de conservation efficaces et la compréhension des mécanismes écologiques.



Certaines méthodologies non perturbantes se présentent comme des alternatives prometteuses aux méthodes de capture pour suivre la biodiversité. Outre leur avantage intrinsèque lié à leur impact réduit sur la faune, ces méthodes offrent un certain nombre d'avantages pratiques lié à l'absence de manipulation des animaux. Parmi celles-ci, la collecte d'ADNe permet de détecter la présence des espèces dans un environnement à partir d'un simple échantillon environnemental. De même, le piégeage photographique permet de détecter les espèces et de quantifier leur activité à l'aide de caméras capables de collecter des données sur de très longues périodes.

L'intérêt pour ces méthodes non-perturbantes est croissant (Lefort et al. 2022). Le piégeage photographique est déjà largement utilisé pour surveiller les populations de grands mammifères, tandis que l'ADNe est largement employé pour étudier la diversité des écosystèmes aquatiques. Cependant, l'application de ces méthodes pour le suivi des petits mammifères, qui jouent un rôle crucial dans le fonctionnement des écosystèmes et dans la transmission d'agents zoonotiques, demeure peu explorée (Van Leeuwen et Michaux 2023).

## 2. Approches envisagées

Dans le cadre de mon projet de thèse, nous souhaitons explorer l'utilisation des méthodes d'échantillonnage moins perturbantes pour i) estimer la richesse des petits mammifères à l'échelle d'une ligne de piégeage et ii) estimer la composition du microbiome intestinal. Pour cela, nous souhaitons utiliser ces méthodes en parallèle de notre échantillonnage destructif pour comparer les résultats obtenus individuellement par chacune de ces méthodes et évaluer les avantages résultant de leur utilisation combinée. L'exploration de méthodes peu perturbantes visant à estimer la composition du régime alimentaire est aussi envisagée, mais elle dépendra fortement des choix de méthodologies mis en œuvre dans le cadre du troisième axe (Partie II.D).

### a) *Suivi de la diversité*

Les détails des méthodologies non perturbantes à explorer pour le suivi de la biodiversité sont en cours de discussion, mais plusieurs approches candidates ont déjà été identifiées. L'utilisation de pièges photographiques pourrait offrir une meilleure compréhension de la diversité spécifique des communautés de petits mammifères. Toutefois, les modalités d'utilisation de ces pièges restent largement à définir. Actuellement, l'utilisation de cette méthode est limitée en raison des défis spécifiques liés aux caractéristiques des petits mammifères. En effet, capturer photographiquement ces organismes de petite taille peut être complexe, surtout dans les environnements avec une forte couverture végétale au sol (Littlewood et al. 2021). Pour cette raison, nous envisageons l'utilisation de piège photographique « tunnels » capables d'être appâtés et/ou d'exploiter la propension de ces animaux à explorer les cavités. Les similitudes morphologiques entre certains de ces organismes, pourraient cependant rendre l'identification à l'échelle de l'espèce complexe, notamment en présence d'espèces cryptiques vivant en sympatrie. Pour répondre à cette problématique nous envisageons de combiner l'utilisation de ces pièges photographiques avec la collecte d'ADN environnemental. Un écouvillonnage du piège tunnel pourrait notamment permettre une identification croisée.

Cette identification moléculaire pourrait être plus difficilement accessible sans l'utilisation de ce type de piège. Dans le cas où nous utiliserions une caméra sans tunnel, la collecte d'ADN environnemental pourrait être obtenue à partir d'échantillonnage du sol superficiel. Cependant, la présence d'inhibiteurs dans le sol et l'exposition de cet ADN aux UV et aux vents pourraient limiter notre capacité à obtenir de l'information génétique. Pour vérifier cette hypothèse, nous proposons également d'échantillonner le sol à l'entrée du piège tunnel. Cette zone de passage devrait également contenir des fragments d'ADN des espèces capturées par le piège photographique. L'observation de différences avec l'identification moléculaire obtenue avec l'ADN environnemental trouvée dans le piège pourrait témoigner de la difficulté que représente l'acquisition d'ADN à partir d'un substrat tel que le sol pour l'identification des organismes terrestres.

Nous envisageons également d'utiliser une approche de collecte opportuniste des toiles d'araignées pour détecter la présence des petits mammifères par ADNe sur les sites d'échantillonnage. Les toiles d'araignées, du

fait de leurs propriétés adhésives, ont la capacité de concentrer les sources de matériel génétique présentes dans l'air, ce qui pourrait en faire un outil précieux pour le suivi de la biodiversité terrestre (Gregorič et al. 2022; Newton et al. 2024).

#### b) *Caractérisation du microbiome intestinal bactérien*

Le prélèvement de matières fécales pourrait constituer un outil approprié pour l'échantillonnage non-létal lors de l'étude des relations entre microbiome et paysage. Les fèces sont par ailleurs régulièrement utilisées dans les études sur la faune sauvage afin d'évaluer la composition du microbiome intestinal. Néanmoins, des divergences entre les microbiomes issus des matières fécales et du colon ont été observées chez la souris (Lkhagva et al. 2021) et la chauve-souris (Ingala et al. 2019), bien que cette différence n'ait pas été observée dans une étude portant sur le microbiome des rongeurs asiatiques du genre *Apodemus* (Anders et al. 2021).

La mise en évidence d'une différence entre les microbiomes fécaux et caeaux pourrait avoir des implications significatives. Ingala et al. 2019 suggère notamment que le microbiome fécal pourrait conserver davantage de signaux issus du régime alimentaire et donc ne pas traduire la même information que le microbiome caecal.

Nous avons amplifié l'ADN 16S bactérien issu du colon et des fèces de nos rongeurs (*cf.* Partie II.D.2) et nous chercherons à déterminer si les microbiomes qui en sont issus permettent de décrire les grands patrons associés aux modifications du paysage. En cas de différence, nous chercherons à identifier le prélèvement plus informatif. Les résultats obtenus nous informeront alors sur la méthodologie la moins invasive à privilégier pour obtenir un niveau d'information suffisant.

### III. Activités accomplies et planifiées

#### A. Formations et expériences

Participation totale aux heures de formation : 56 heures / 4 modules validés ou en cours de validation

##### 1. Modules scientifiques (45h)

- Bonnes pratiques pour une recherche reproductible en écologie numérique (20 novembre 2023 – 24 novembre 2023, 25h)
- Bonnes pratiques expérimentales dans un laboratoire L2 (12 mars 2024, 14h)
- Envisagé : Analyzing ecological network data (CESAB, prochaine session)
- Prévu : Formation à la modélisation SEM et/ou HMSC (à identifier)

##### 2. Modules transversaux (généraux et professionnels, 45h)

- Journée de rentrée des doctorants de l'ED GAIA (08 février 2024, 2h)
- MOOC Intégrité scientifique dans les métiers de la recherche (28 février 2024, 15h)
- Participation au conseil d'unité du CBGP en tant que représentant des non-permanents (trinôme, 2h par conseil, 20h max sur 3 ans)
- Participation à l'organisation du colloque « BioRodDis « final meeting » (27 au 29 novembre 2024, 15h)
- Prévu : Médiation scientifique en tant qu'ambassadeur « Declics » et Fête de la science
- Prévu : Encadrement et/ou coencadrement de stagiaires
- Envisagé : Vacances dans le master ECO-EPI de Montpellier et à l'Institut Agro

##### 3. Séminaires et conférences

- Présentation à l'Axe 3 du CBGP : Ecologie et évolution des zoonoses
- Prévue : Présentation au Printemps de Baillarguet édition 2024

- Prévus (abstract soumis): 15th European Wildlife Disease Conference (septembre 2024)

#### 4. Autres expériences

- Participation à la sélection d'articles pour une méta-analyse visant à quantifier l'efficacité de la restauration écologique sur la réduction du danger zoonotique
- Prévus : Séjour en Allemagne au FLI pour biologie moléculaire (septembre 2024)
- Prévus : Séjour à Maisons-Alfort pour puce microfluidique (à déterminer)

### B. Chronogramme prévisionnel

	2023			2024												2025												2026											
	oct	nov	déc	janv	févr	mars	avr	mai	juin	juil	août	sept	oct	nov	déc	janv	févr	mars	avr	mai	juin	juil	août	sept	oct	nov	déc	janv	févr	mars	avr	mai	juin	juil	août	sept			
Echantillonnage																																							
Biologie moléculaire (CBGP)																																							
Biologie moléculaire (collab)																																							
Analyses bioinformatiques																																							
Analyses statistiques																																							
Rédaction d'articles																																							
Formations et colloques																																							
Rédaction (comité et manuscrit)																																							
Bibliographie																																							

## IV. Bibliographie

- Abbas, Frial, Nicolas Morellet, A. J. Mark Hewison, Joël Merlet, Bruno Cargnelutti, Bruno Lourtet, Jean-Marc Angibault, Tanguy Daufresne, Stéphane Aulagnier, et Hélène Verheyden. 2011. « Landscape Fragmentation Generates Spatial Variation of Diet Composition and Quality in a Generalist Herbivore ». *Oecologia* 167 (2): 401-11. <https://doi.org/10.1007/s00442-011-1994-0>.
- Abbate, Jessica L., Maxime Galan, Maria Razzauti, Tarja Sironen, Liina Voutilainen, Heikki Henttonen, Patrick Gasqui, Jean-François Cosson, et Nathalie Charbonnel. 2024. « Pathogen community composition and co-infection patterns in a wild community of rodents ». *Peer Community Journal* 4. <https://doi.org/10.24072/pcjournal.370>.
- Acevedo-Whitehouse, Karina, et Amanda L. J. Duffus. 2009. « Effects of environmental change on wildlife health ». *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364 (1534): 3429-38. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0128>.
- Allen, Toph, Kris A. Murray, Carlos Zambrana-Torrel, Stephen S. Morse, Carlo Rondinini, Moreno Di Marco, Nathan Breit, Kevin J. Olival, et Peter Daszak. 2017. « Global Hotspots and Correlates of Emerging Zoonotic Diseases ». *Nature Communications* 8 (1): 1124. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00923-8>.
- Anders, Jason L., Mohamed Abdallah Mohamed Moustafa, Wessam Mohamed Ahmed Mohamed, Takashi Hayakawa, Ryo Nakao, et Itsuro Koizumi. 2021. « Comparing the Gut Microbiome along the Gastrointestinal Tract of Three Sympatric Species of Wild Rodents ». *Scientific Reports* 11 (1): 19929. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-99379-6>.
- Andreassen, Harry P., Janne Sundell, Fraucke Ecke, Stefan Halle, Marko Haapakoski, Heikki Henttonen, Otso Huitu, et al. 2021. « Population Cycles and Outbreaks of Small Rodents: Ten Essential Questions We Still Need to Solve ». *Oecologia* 195 (3): 601-22. <https://doi.org/10.1007/s00442-020-04810-w>.
- Avenant, Nico. 2011. « The Potential Utility of Rodents and Other Small Mammals as Indicators of Ecosystem 'Integrity' of South African Grasslands ». *Wildlife Research* 38 (7): 626-39. <https://doi.org/10.1071/WR10223>.
- Barko, P.c., M.a. McMichael, K.s. Swanson, et D.a. Williams. 2018. « The Gastrointestinal Microbiome: A Review ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 32 (1): 9-25. <https://doi.org/10.1111/jvim.14875>.

- Beldomenico, Pablo M, Sandra Telfer, Stephanie Gebert, Lukasz Lukomski, Malcolm Bennett, et Michael Begon. 2008. « Poor condition and infection: a vicious circle in natural populations ». *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 275 (1644): 1753-59. <https://doi.org/10.1098/rspb.2008.0147>.
- Belkaid, Yasmine, et Timothy W. Hand. 2014. « Role of the Microbiota in Immunity and Inflammation ». *Cell* 157 (1): 121-41. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.011>.
- Bitters, Matthew E., Jacqui Meyers, Julian Resasco, Stephen D. Sarre, Kika T. Tuff, et Kendi F. Davies. 2022. « Experimental Habitat Fragmentation Disrupts Host-Parasite Interaction over Decades via Life-Cycle Bottlenecks ». *Ecology* 103 (9): e3758. <https://doi.org/10.1002/ecy.3758>.
- Bonin, Michaël, Christian Dussault, Joëlle Taillon, Nicolas Lecomte, et Steeve D. Côté. 2020. « Combining Stable Isotopes, Morphological, and Molecular Analyses to Reconstruct the Diet of Free-Ranging Consumers ». *Ecology and Evolution* 10 (13): 6664-76. <https://doi.org/10.1002/ece3.6397>.
- Bouilloud, Marie, Maxime Galan, Adelaide Dubois, Christophe Diagne, Philippe Marianneau, Benjamin Roche, et Nathalie Charbonnel. 2023. « Three-way relationships between gut microbiota, helminth assemblages and bacterial infections in wild rodent populations ». *Peer Community Journal* 3. <https://doi.org/10.24072/pcjournal.243>.
- Bouilloud, Marie, Maxime Galan, Julien Pradel, Anne Loiseau, Julien Ferrero, Romain Gallet, Benjamin Roche, et Nathalie Charbonnel. 2024. « Exploring the Potential Effects of Forest Urbanization on the Interplay between Small Mammal Communities and Their Gut Microbiota ». *Animal Microbiome* 6 (1): 16. <https://doi.org/10.1186/s42523-024-00301-y>.
- Bourdin, Audrey. 2023. « Effet de la diversité des arbres sur la réduction des risques liés aux tiques pour la santé humaine ». Thèse de doctorat, Bordeaux. <https://www.theses.fr/2023BORD0070>.
- Bourdin, Audrey, Severine Bord, Jonas Durand, Clemence Galon, Sara Moutailler, Michael Scherer-Lorenzen, et Herve Jactel. 2022. « Forest Diversity Reduces the Prevalence of Pathogens Transmitted by the Tick Ixodes Ricinus ». *Frontiers in Ecology and Evolution* 10 (mai). <https://doi.org/10.3389/fevo.2022.891908>.
- Bourdin, Audrey, Théo Dokhelar, Séverine Bord, Inge van Halder, Alex Stemmelen, Michael Scherer-Lorenzen, et Hervé Jactel. 2023. « Forests harbor more ticks than other habitats: A meta-analysis ». *Forest Ecology and Management* 541 (août): 121081. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2023.121081>.
- Brearley, Grant, Jonathan Rhodes, Adrian Bradley, Greg Baxter, Leonie Seabrook, Daniel Lunney, Yan Liu, et Clive McAlpine. 2013. « Wildlife Disease Prevalence in Human-Modified Landscapes ». *Biological Reviews* 88 (2): 427-42. <https://doi.org/10.1111/brv.12009>.
- Brockerhoff, Eckehard G., Luc Barbaro, Bastien Castagneyrol, David I. Forrester, Barry Gardiner, José Ramón González-Olabarria, Phil O'B. Lyver, et al. 2017. « Forest Biodiversity, Ecosystem Functioning and the Provision of Ecosystem Services ». *Biodiversity and Conservation* 26 (13): 3005-35. <https://doi.org/10.1007/s10531-017-1453-2>.
- Brockerhoff, Eckehard G., Hervé Jactel, John A. Parrotta, Christopher P. Quine, et Jeffrey Sayer. 2008. « Plantation Forests and Biodiversity: Oxymoron or Opportunity? ». *Biodiversity and Conservation* 17 (5): 925-51. <https://doi.org/10.1007/s10531-008-9380-x>.
- Broom, Donald, et Ken Johnson. 2019. *Stress and Animal Welfare: Key Issues in the Biology of Humans and Other Animals*. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-32153-6>.
- Calder, Philip C., et Alan A. Jackson. 2000. « Undernutrition, Infection and Immune Function ». *Nutrition Research Reviews* 13 (1): 3-29. <https://doi.org/10.1079/095442200108728981>.
- « CBGP - Small mammal Collection ». 2022. Recherche Data Gouv. <https://doi.org/10.15454/WWNUPO>.
- Claesson, Marcus J., Qiong Wang, Orla O'Sullivan, Rachel Greene-Diniz, James R. Cole, R. Paul Ross, et Paul W. O'Toole. 2010. « Comparison of two next-generation sequencing technologies for resolving highly complex microbiota composition using tandem variable 16S rRNA gene regions ». *Nucleic Acids Research* 38 (22): e200. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq873>.
- Clinchy, Michael, Michael J. Sheriff, et Liana Y. Zanelle. 2013. « Predator-Induced Stress and the Ecology of Fear ». *Functional Ecology* 27 (1): 56-65. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12007>.
- Cohen, Carmit, Merav Shemesh, Mario Garrido, Irit Messika, Monica Einav, Irina Khokhlova, Séverine Tasker, et Hadas Hawlena. 2018. « Haemoplasmas in Wild Rodents: Routes of Transmission and Infection Dynamics ». *Molecular Ecology* 27 (18): 3714-26. <https://doi.org/10.1111/mec.14826>.

- Davies, Zoe G., et Andrew S. Pullin. 2007. « Are Hedgerows Effective Corridors between Fragments of Woodland Habitat? An Evidence-Based Approach ». *Landscape Ecology* 22 (3): 333-51. <https://doi.org/10.1007/s10980-006-9064-4>.
- Diuk-Wasser, Maria A, Meredith C VanAcker, et Maria P Fernandez. 2021. « Impact of Land Use Changes and Habitat Fragmentation on the Eco-epidemiology of Tick-Borne Diseases ». *Journal of Medical Entomology* 58 (4): 1546-64. <https://doi.org/10.1093/jme/tjaa209>.
- Dobigny, Gauthier, Madougou Garba, Caroline Tatar, Anne Loiseau, Max Galan, Ibrahima Kadaouré, Jean-Pierre Rossi, Mathieu Picardeau, et Eric Bertherat. 2015. « Urban Market Gardening and Rodent-Borne Pathogenic *Leptospira* in Arid Zones: A Case Study in Niamey, Niger ». *PLoS Neglected Tropical Diseases* 9 (10): e0004097. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004097>.
- Dondina, Olivia, Leila Kataoka, Valerio Orioli, et Luciano Bani. 2016. « How to manage hedgerows as effective ecological corridors for mammals: A two-species approach ». *Agriculture, Ecosystems & Environment* 231 (septembre): 283-90. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.07.005>.
- Duijvendijk, Gilian van, Claudia Coipan, Alex Wagemakers, Manoj Fonville, Jasmin Ersöz, Anneke Oei, Gábor Földvári, Joppe Hovius, Willem Takken, et Hein Sprong. 2016. « Larvae of *Ixodes Ricinus* Transmit *Borrelia Afzelii* and *B. Miyamotoi* to Vertebrate Hosts ». *Parasites & Vectors* 9 (1): 97. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1389-5>.
- Ecke, Frauke, Barbara A. Han, Birger Hörnfeldt, Hussein Khalil, Magnus Magnusson, Navinder J. Singh, et Richard S. Ostfeld. 2022. « Population Fluctuations and Synanthropy Explain Transmission Risk in Rodent-Borne Zoonoses ». *Nature Communications* 13 (1): 7532. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-35273-7>.
- Ecke, Frauke, Ola Löfgren, Birger Hörnfeldt, Ulf Eklund, Pernilla Ericsson, et Dieke Sörlin. 2001. « Abundance and Diversity of Small Mammals in Relation to Structural Habitat Factors ». *Ecological Bulletins*, n° 49: 165-71.
- Escudié, Frédéric, Lucas Auer, Maria Bernard, Mahendra Mariadassou, Laurent Cauquil, Katia Vidal, Sarah Maman, Guillermina Hernandez-Raquet, Sylvie Combes, et Géraldine Pascal. 2018. « FROGS: Find, Rapidly, OTUs with Galaxy Solution ». *Bioinformatics* 34 (8): 1287-94. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx791>.
- Fackelmann, Gloria, Mark A. F. Gillingham, Julian Schmid, Alexander Christoph Heni, Kerstin Wilhelm, Nina Schwensow, et Simone Sommer. 2021. « Human Encroachment into Wildlife Gut Microbiomes ». *Communications Biology* 4 (1): 1-11. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02315-7>.
- Fitzgibbon, Clare D. 1997. « Small Mammals in Farm Woodlands: The Effects of Habitat, Isolation and Surrounding Land-Use Patterns ». *Journal of Applied Ecology* 34 (2): 530-39. <https://doi.org/10.2307/2404895>.
- Fleischer, Ramona, Christie Jones, Paula Ledezma-Campos, Gábor Á. Cziráj, Simone Sommer, Thomas R. Gillespie, et Amanda Vicente-Santos. 2024. « Gut microbial shifts in vampire bats linked to immunity due to changed diet in human disturbed landscapes ». *Science of The Total Environment* 907 (janvier): 167815. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167815>.
- Fuentes-Montemayor, Elisa, Mark Ferryman, Kevin Watts, Nicholas A. Macgregor, Natasha Hambly, Stephen Brennan, Ruth Coxon, Holly Langridge, et Kirsty J. Park. 2020. « Small Mammal Responses to Long-Term Large-Scale Woodland Creation: The Influence of Local and Landscape-Level Attributes ». *Ecological Applications* 30 (2): e02028. <https://doi.org/10.1002/eap.2028>.
- Galan, Maxime, Jean-Baptiste Pons, Orianne Tournayre, Éric Pierre, Maxime Leuchtmann, Dominique Pontier, et Nathalie Charbonnel. 2018. « Metabarcoding for the Parallel Identification of Several Hundred Predators and Their Prey: Application to Bat Species Diet Analysis ». *Molecular Ecology Resources* 18 (3): 474-89. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12749>.
- Galan, Maxime, Maria Razzauti, Emilie Bard, Maria Bernard, Carine Brouat, Nathalie Charbonnel, Alexandre Dehne-Garcia, et al. 2016. « 16S rRNA Amplicon Sequencing for Epidemiological Surveys of Bacteria in Wildlife ». *mSystems* 11 (4): e00032-16. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00032-16>.
- Gámez-Virués, Sagrario, David J. Perović, Martin M. Gossner, Carmen Börschig, Nico Blüthgen, Heike de Jong, Nadja K. Simons, et al. 2015. « Landscape Simplification Filters Species Traits and Drives Biotic Homogenization ». *Nature Communications* 6 (1): 8568. <https://doi.org/10.1038/ncomms9568>.
- Gasparini, Stefania, Alessio Mortelliti, Paola Bartolommei, Andrea Bonacchi, Emiliano Manzo, et Roberto Cozzolino. 2016. « Effects of forest management on density and survival in three forest rodent

- species ». *Forest Ecology and Management* 382 (décembre): 151-60.  
<https://doi.org/10.1016/j.foreco.2016.10.014>.
- Gelling, Merryl, David W. Macdonald, et Fiona Mathews. 2007. « Are Hedgerows the Route to Increased Farmland Small Mammal Density? Use of Hedgerows in British Pastoral Habitats ». *Landscape Ecology* 22 (7): 1019-32. <https://doi.org/10.1007/s10980-007-9088-4>.
- Gentili, Stefania, Maurizia Sigura, et Laura Bonesi. 2014. « Decreased Small Mammals Species Diversity and Increased Population Abundance along a Gradient of Agricultural Intensification ». *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy* 25 (1): 39-44. <https://doi.org/10.4404/hystrix-25.1-9246>.
- Gibb, Rory, David W. Redding, Kai Qing Chin, Christl A. Donnelly, Tim M. Blackburn, Tim Newbold, et Kate E. Jones. 2020. « Zoonotic Host Diversity Increases in Human-Dominated Ecosystems ». *Nature* 584 (7821): 398-402. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2562-8>.
- Gormally, Brenna M. G., et L. Michael Romero. 2020. « What Are You Actually Measuring? A Review of Techniques That Integrate the Stress Response on Distinct Time-Scales ». *Functional Ecology* 34 (10): 2030-44. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13648>.
- Gottdenker, Nicole L., Daniel G. Streicker, Christina L. Faust, et C. R. Carroll. 2014. « Anthropogenic Land Use Change and Infectious Diseases: A Review of the Evidence ». *EcoHealth* 11 (4): 619-32.  
<https://doi.org/10.1007/s10393-014-0941-z>.
- Gregorič, Matjaž, Denis Kutnjak, Katarina Bačnik, Cene Gostinčar, Anja Pecman, Maja Ravnikar, et Matjaž Kuntner. 2022. « Spider Webs as eDNA Samplers: Biodiversity Assessment across the Tree of Life ». *Molecular Ecology Resources* 22 (7): 2534-45. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13629>.
- Guivier, E., M. Galan, Y. Chaval, A. Xuéreb, A. Ribas Salvador, M.-L. Poulle, L. Voutilainen, H. Henttonen, N. Charbonnel, et J. F. Cosson. 2011. « Landscape Genetics Highlights the Role of Bank Vole Metapopulation Dynamics in the Epidemiology of Puumala Hantavirus ». *Molecular Ecology* 20 (17): 3569-83. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05199.x>.
- Han, Barbara A., John Paul Schmidt, Sarah E. Bowden, et John M. Drake. 2015. « Rodent reservoirs of future zoonotic diseases ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112 (22): 7039-44.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1501598112>.
- Harkins, Kristina M., Doug Keinath, et Merav Ben-David. 2019. « It's a Trap: Optimizing Detection of Rare Small Mammals ». *PLOS ONE* 14 (3): e0213201. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213201>.
- Hauck, Daniela, Daniela Jordan, Andrea Springer, Bettina Schunack, Stefan Pachnicke, Volker Fingerle, et Christina Strube. 2020. « Transovarial Transmission of *Borrelia* Spp., *Rickettsia* Spp. and *Anaplasma Phagocytophilum* in *Ixodes Ricinus* under Field Conditions Extrapolated from DNA Detection in Questing Larvae ». *Parasites & Vectors* 13 (1): 176. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04049-7>.
- Heni, Alexander Christoph, Gloria Fackelmann, Georg Eibner, Svetlana Kreinert, Julian Schmid, Nina Isabell Schwensow, Jonas Wiegand, Kerstin Wilhelm, et Simone Sommer. 2023. « Wildlife gut microbiomes of sympatric generalist species respond differently to anthropogenic landscape disturbances ». *Animal Microbiome* 5 (1): 22. <https://doi.org/10.1186/s42523-023-00237-9>.
- Henttonen, Heikki. 2022. « Importance of Demography in Understanding Disease Ecology in Small Mammals ». *Therya* 13 (1): 33-38. <https://doi.org/10.12933/therya-22-1190>.
- Hofmeester, Tim R., Hein Sprong, Patrick A. Jansen, Herbert H. T. Prins, et Sipke E. van Wieren. 2017. « Deer Presence Rather than Abundance Determines the Population Density of the Sheep Tick, *Ixodes Ricinus*, in Dutch Forests ». *Parasites & Vectors* 10 (1): 433. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2370-7>.
- Hofreiter, M., H. N. Poinar, W. G. Spaulding, K. Bauer, P. S. Martin, G. Possnert, et S. Pääbo. 2000. « A Molecular Analysis of Ground Sloth Diet through the Last Glaciation ». *Molecular Ecology* 9 (12): 1975-84. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2000.01106.x>.
- Hopkins, Skylar R., Kevin D. Lafferty, Chelsea L. Wood, Sarah H. Olson, Julia C. Buck, Giulio A. De Leo, Kathryn J. Fiorella, et al. 2022. « Evidence Gaps and Diversity among Potential Win-Win Solutions for Conservation and Human Infectious Disease Control ». *The Lancet Planetary Health* 6 (8): e694-705. [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(22\)00148-6](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(22)00148-6).
- Ingala, Melissa R., Daniel J. Becker, Jacob Bak Holm, Karsten Kristiansen, et Nancy B. Simmons. 2019. « Habitat Fragmentation Is Associated with Dietary Shifts and Microbiota Variability in Common Vampire Bats ». *Ecology and Evolution* 9 (11): 6508-23. <https://doi.org/10.1002/ece3.5228>.
- Jactel, Hervé, Jürgen Bauhus, Johanna Boberg, Damien Bonal, Bastien Castagneyrol, Barry Gardiner, Jose Ramon Gonzalez-Olabarria, Julia Koricheva, Nicolas Meurisse, et Eckehard G. Brockerhoff. 2017.

- « Tree Diversity Drives Forest Stand Resistance to Natural Disturbances ». *Current Forestry Reports* 3 (3): 223-43. <https://doi.org/10.1007/s40725-017-0064-1>.
- Jactel, Hervé, Xoaquín Moreira, et Bastien Castagnéyrol. 2021. « Tree Diversity and Forest Resistance to Insect Pests: Patterns, Mechanisms, and Prospects ». *Annual Review of Entomology* 66 (Volume 66, 2021): 277-96. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-041720-075234>.
- Johnson, Pieter T. J., Jason R. Rohr, Jason T. Hoverman, Esra Kellermanns, Jay Bowerman, et Kevin B. Lunde. 2012. « Living Fast and Dying of Infection: Host Life History Drives Interspecific Variation in Infection and Disease Risk ». *Ecology Letters* 15 (3): 235-42. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01730.x>.
- Jones, Kate E., Nikkita G. Patel, Marc A. Levy, Adam Storeygard, Deborah Balk, John L. Gittleman, et Peter Daszak. 2008. « Global Trends in Emerging Infectious Diseases ». *Nature* 451 (7181): 990-93. <https://doi.org/10.1038/nature06536>.
- Kamiya, Tsukushi, Katie O'Dwyer, Shinichi Nakagawa, et Robert Poulin. 2014. « Host Diversity Drives Parasite Diversity: Meta-Analytical Insights into Patterns and Causal Mechanisms ». *Ecography* 37 (7): 689-97. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2013.00571.x>.
- Kauffman, Matthew J., et John L. Maron. 2006. « Consumers Limit the Abundance and Dynamics of a Perennial Shrub with a Seed Bank. » *The American Naturalist* 168 (4): 454-70. <https://doi.org/10.1086/507877>.
- Keesing, F., R. D. Holt, et R. S. Ostfeld. 2006. « Effects of Species Diversity on Disease Risk ». *Ecology Letters* 9 (4): 485-98. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.00885.x>.
- Keinath, Douglas A., Daniel F. Doak, Karen E. Hodges, Laura R. Prugh, William Fagan, Cagan H. Sekercioglu, Stuart H. M. Buchart, et Matthew Kauffman. 2017. « A Global Analysis of Traits Predicting Species Sensitivity to Habitat Fragmentation ». *Global Ecology and Biogeography* 26 (1): 115-27. <https://doi.org/10.1111/geb.12509>.
- Khalil, Hussein, Frauke Ecker, Magnus Evander, Magnus Magnusson, et Birger Hörnfeldt. 2016. « Declining Ecosystem Health and the Dilution Effect ». *Scientific Reports* 6 (1): 31314. <https://doi.org/10.1038/srep31314>.
- Kohl, Kevin D., Etan Dieppa-Colón, José Goyco-Blas, Karen Peralta-Martínez, Luke Scafidi, Sarth Shah, Emma Zawacki, et al. 2022. « Gut Microbial Ecology of Five Species of Sympatric Desert Rodents in Relation to Herbivorous and Insectivorous Feeding Strategies ». *Integrative and Comparative Biology* 62 (2): 237-51. <https://doi.org/10.1093/icb/icac045>.
- Koks, B.J., CHRISTIANE TRIERWEILER, ERIK VISSER, Cor Dijkstra, et Jan Komdeur. 2007. « Do voles make agricultural habitat attractive to Montagu's Harrier Circus pygargus? » *Ibis* 149 (juillet): 575-86. <https://doi.org/10.1111/j.1474-919X.2007.00683.x>.
- Kosoy, M., C. McKee, L. Albayrak, et Y. Fofanov. 2018. « Genotyping of Bartonella Bacteria and Their Animal Hosts: Current Status and Perspectives ». *Parasitology* 145 (5): 543-62. <https://doi.org/10.1017/S0031182017001263>.
- Kubinak, Jason L., W. Zac Stephens, Ray Soto, Charisse Petersen, Tyson Chiaro, Lasha Gogokhia, Rickesha Bell, et al. 2015. « MHC Variation Sculpted Individualized Microbial Communities That Control Susceptibility to Enteric Infection ». *Nature Communications* 6 (1): 8642. <https://doi.org/10.1038/ncomms9642>.
- Labbé, Frédéric, Benoit Marçais, Jean-Luc Dupouey, Thierry Bélouard, Xavier Capdevielle, Dominique Piou, Cécile Robin, et Cyril Dutech. 2015. « Pre-existing forests as sources of pathogens? The emergence of *Armillaria ostoyae* in a recently planted pine forest ». *Forest Ecology and Management* 357 (décembre): 248-58. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2015.08.028>.
- Lacher, Thomas E., Jr., Ana D Davidson, Theodore H Fleming, Emma P Gómez-Ruiz, Gary F McCracken, Norman Owen-Smith, Carlos A Peres, et Stephen B Vander Wall. 2019. « The functional roles of mammals in ecosystems ». *Journal of Mammalogy* 100 (3): 942-64. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyy183>.
- Langlois, Jean P., Lenore Fahrig, Gray Merriam, et Harvey Artsob. 2001. « Landscape Structure Influences Continental Distribution of Hantavirus in Deer Mice ». *Landscape Ecology* 16 (3): 255-66. <https://doi.org/10.1023/A:1011148316537>.
- Lefort, Marie-Caroline, Robert H. Cruickshank, Kris Descovich, Nigel J. Adams, Arijana Barun, Arsalan Emami-Khoyi, Johnathon Ridden, et al. 2022. « Blood, sweat and tears: a review of non-invasive DNA sampling ». *Peer Community Journal* 2. <https://doi.org/10.24072/pcjournal.98>.



- Littlewood, Nick A., Mark H. Hancock, Scott Newey, Gorm Shackelford, et Rose Toney. 2021. « Use of a Novel Camera Trapping Approach to Measure Small Mammal Responses to Peatland Restoration », janvier. <https://doi.org/10.17863/CAM.63193>.
- Lkhagva, Enkhchimeg, Hea-Jong Chung, Jinny Hong, Wai Hong Wilson Tang, Sang-Il Lee, Seong-Tshool Hong, et Seungkoo Lee. 2021. « The regional diversity of gut microbiome along the GI tract of male C57BL/6 mice ». *BMC Microbiology* 21 (1): 44. <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02099-0>.
- Lochmiller, Robert L., et Charlotte Deerenberg. 2000. « Trade-Offs in Evolutionary Immunology: Just What Is the Cost of Immunity? » *Oikos* 88 (1): 87-98. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2000.880110.x>.
- Marsh, Kirsty J., Aura M. Raulo, Marc Brouard, Tanya Troitsky, Holly M. English, Bryony Allen, Rohan Raval, et al. 2022. « Synchronous Seasonality in the Gut Microbiota of Wild Mouse Populations ». *Frontiers in Microbiology* 13 (avril). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.809735>.
- Martin, Lynn B. 2009. « Stress and immunity in wild vertebrates: Timing is everything ». *General and Comparative Endocrinology*, 9th International Symposium on Avian Endocrinology, 163 (1): 70-76. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.03.008>.
- Maurice, Corinne F., Sarah CL Knowles, Joshua Ladau, Katherine S. Pollard, Andy Fenton, Amy B. Pedersen, et Peter J. Turnbaugh. 2015. « Marked Seasonal Variation in the Wild Mouse Gut Microbiota ». *The ISME Journal* 9 (11): 2423-34. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.53>.
- McKinney, Michael L, et Julie L Lockwood. 1999. « Biotic homogenization: a few winners replacing many losers in the next mass extinction ». *Trends in Ecology & Evolution* 14 (11): 450-53. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(99\)01679-1](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(99)01679-1).
- Melo, Geruza Leal, Jonas Sponchiado, Nilton Carlos Cáceres, et Lenore Fahrig. 2017. « Testing the habitat amount hypothesis for South American small mammals ». *Biological Conservation* 209 (mai): 304-14. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2017.02.031>.
- Mendoza, Hugo, André V. Rubio, Gabriel E. García-Peña, Gerardo Suzán, et Javier A. Simonetti. 2019. « Does Land-Use Change Increase the Abundance of Zoonotic Reservoirs? Rodents Say Yes ». *European Journal of Wildlife Research* 66 (1): 6. <https://doi.org/10.1007/s10344-019-1344-9>.
- Merritt, Joseph F. 2010. *The Biology of Small Mammals*. JHU Press.
- Michelet, Lorraine, Sabine Delannoy, Elodie Devillers, Gérald Umhang, Anna Aspan, Mikael Juremalm, Jan Chirico, et al. 2014. « High-throughput screening of tick-borne pathogens in Europe ». *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 4. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2014.00103>.
- Mills, James N., Terry L. Yates, James E. Childs, Robert R. Parmenter, Thomas G. Ksiazek, Pierre E. Rollin, et C. J. Peters. 1995. « Guidelines for Working with Rodents Potentially Infected with Hantavirus ». *Journal of Mammalogy* 76 (3): 716-22. <https://doi.org/10.2307/1382742>.
- Montgomery, Ian, Tancredi Caruso, et Neil Reid. 2020. « Hedgerows as Ecosystems: Service Delivery, Management, and Restoration ». *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 51 (1): 81-102. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-012120-100346>.
- Montgomery, S. S. J., et W. I. Montgomery. 1990. « Intrapopulation Variation in the Diet of the Wood Mouse *Apodemus Sylvaticus* ». *Journal of Zoology* 222 (4): 641-51. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1990.tb06020.x>.
- Moret, Yannick, et Paul Schmid-Hempel. 2000. « Survival for Immunity: The Price of Immune System Activation for Bumblebee Workers ». *Science* 290 (5494): 1166-68. <https://doi.org/10.1126/science.290.5494.1166>.
- Murray, Maureen H., Emily W. Lankau, Anjelika D. Kidd, Catharine N. Welch, Taylor Ellison, Henry C. Adams, Erin K. Lipp, et Sonia M. Hernandez. 2020. « Gut microbiome shifts with urbanization and potentially facilitates a zoonotic pathogen in a wading bird ». *PLoS ONE* 15 (3): e0220926. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220926>.
- Navarro-Castilla, Álvaro, et Isabel Barja. 2019. « Stressful Living in Lower-Quality Habitats? Body Mass, Feeding Behavior and Physiological Stress Levels in Wild Wood Mouse Populations ». *Integrative Zoology* 14 (1): 114-26. <https://doi.org/10.1111/1749-4877.12351>.
- Newbold, Tim, Lawrence N. Hudson, Samantha L. L. Hill, Sara Contu, Igor Lysenko, Rebecca A. Senior, Luca Börger, et al. 2015. « Global Effects of Land Use on Local Terrestrial Biodiversity ». *Nature* 520 (7545): 45-50. <https://doi.org/10.1038/nature14324>.

- Newton, Joshua P., Paul Nevill, Philip W. Bateman, Matthew A. Campbell, et Morten E. Allentoft. 2024. « Spider webs capture environmental DNA from terrestrial vertebrates ». *iScience* 27 (2): 108904. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.108904>.
- Norman, A. F., R. Regnery, P. Jameson, C. Greene, et D. C. Krause. 1995. « Differentiation of Bartonella-like Isolates at the Species Level by PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism in the Citrate Synthase Gene ». *Journal of Clinical Microbiology* 33 (7): 1797-1803. <https://doi.org/10.1128/jcm.33.7.1797-1803.1995>.
- Ogier, Jean-Claude, Sylvie Pagès, Maxime Galan, Matthieu Barret, et Sophie Gaudriault. 2019. « rpoB, a promising marker for analyzing the diversity of bacterial communities by amplicon sequencing ». *BMC Microbiology* 19 (1): 171. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1546-z>.
- Ovaskainen, Otso, Gleb Tikhonov, Anna Norberg, F. Guillaume Blanchet, Leo Duan, David Dunson, Tomas Roslin, et Nerea Abrego. 2017. « How to Make More out of Community Data? A Conceptual Framework and Its Implementation as Models and Software ». *Ecology Letters* 20 (5): 561-76. <https://doi.org/10.1111/ele.12757>.
- Panzacchi, Manuela, John D. C. Linnell, Claudia Melis, Morten Odden, John Odden, Lucrezia Gorini, et Reidar Andersen. 2010. « Effect of land-use on small mammal abundance and diversity in a forest–farmland mosaic landscape in south-eastern Norway ». *Forest Ecology and Management* 259 (8): 1536-45. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2010.01.030>.
- Paziewska, Anna, Philip D. Harris, Lucyna Zwolińska, Anna Bajer, et Edward Siński. 2011. « Recombination Within and Between Species of the Alpha Proteobacterium Bartonella Infecting Rodents ». *Microbial Ecology* 61 (1): 134-45. <https://doi.org/10.1007/s00248-010-9735-1>.
- Pedersen, Amy B., et Simon A. Babayan. 2011. « Wild Immunology ». *Molecular Ecology* 20 (5): 872-80. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04938.x>.
- Pedersen, Amy B., et Andy Fenton. 2007. « Emphasizing the Ecology in Parasite Community Ecology ». *Trends in Ecology & Evolution* 22 (3): 133-39. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.11.005>.
- Pendrill, Florence, Toby A. Gardner, Patrick Meyfroidt, U. Martin Persson, Justin Adams, Tasso Azevedo, Mairon G. Bastos Lima, et al. 2022. « Disentangling the numbers behind agriculture-driven tropical deforestation ». *Science* 377 (6611): eabm9267. <https://doi.org/10.1126/science.abm9267>.
- Perez, Grégoire, Suzanne Bastian, Albert Agoulon, Agnès Bouju, Axelle Durand, Frédéric Faille, Isabelle Lebert, Yann Rantier, Olivier Plantard, et Alain Butet. 2016. « Effect of Landscape Features on the Relationship between Ixodes Ricinus Ticks and Their Small Mammal Hosts ». *Parasites & Vectors* 9 (janvier): 20. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1296-9>.
- Petersen, Charisse, et June L. Round. 2014. « Defining Dysbiosis and Its Influence on Host Immunity and Disease ». *Cellular Microbiology* 16 (7): 1024-33. <https://doi.org/10.1111/cmi.12308>.
- Piry, Sylvain, Marie-Pierre Chapuis, Bertrand Gauffre, Julien Papaix, Astrid Cruaud, et Karine Berthier. 2016. « Mapping Averaged Pairwise Information (MAPI): A New Exploratory Tool to Uncover Spatial Structure ». *Methods in Ecology and Evolution* 7 (12): 1463-75. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12616>.
- Poinar, Hendrik N., Michael Hofreiter, W. Geoffrey Spaulding, Paul S. Martin, B. Artur Stankiewicz, Helen Bland, Richard P. Evershed, Göran Possnert, et Svante Pääbo. 1998. « Molecular Coproscopy: Dung and Diet of the Extinct Ground Sloth Nothrotheriops shastensis ». *Science* 281 (5375): 402-6. <https://doi.org/10.1126/science.281.5375.402>.
- Pradel, Julien, Marie Bouilloud, Anne Loiseau, Sylvain Piry, Maxime Galan, Emmanuelle Artige, Guillaume Castel, et al. 2022. « Small terrestrial mammals (Rodentia and Soricomorpha) along a gradient of forest anthropisation (reserves, managed forests, urban parks) in France ». *Biodiversity Data Journal* 10 (décembre): e95214. <https://doi.org/10.3897/bdj.10.e95214>.
- Prist, Paula Ribeiro, Cecilia Siliansky de Andreazzi, Mariana Morais Vidal, Carlos Zambrana-Torrel, Peter Daszak, Raquel L. Carvalho, et Leandro Reverberi Tambosi. 2023. « Promoting Landscapes with a Low Zoonotic Disease Risk through Forest Restoration: The Need for Comprehensive Guidelines ». *Journal of Applied Ecology* 60 (8): 1510-21. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.14442>.
- Reaser, Jamie K., Arne Witt, Gary M. Tabor, Peter J. Hudson, et Raina K. Plowright. 2021. « Ecological Countermeasures for Preventing Zoonotic Disease Outbreaks: When Ecological Restoration Is a Human Health Imperative ». *Restoration Ecology* 29 (4): e13357. <https://doi.org/10.1111/rec.13357>.

- Renesto, Patricia, Joanny Gouvernet, Michel Drancourt, Veronique Roux, et Didier Raoult. 2001. « Use of rpoB Gene Analysis for Detection and Identification of Bartonella Species ». *Journal of Clinical Microbiology* 39 (2): 430-37. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.2.430-437.2001>.
- Ruyts, Sanne C., Evy Ampoorter, Elena C. Coipan, Lander Baeten, Dieter Heylen, Hein Sprong, Erik Matthysen, et Kris Verheyen. 2016. « Diversifying Forest Communities May Change Lyme Disease Risk: Extra Dimension to the Dilution Effect in Europe ». *Parasitology* 143 (10): 1310-19. <https://doi.org/10.1017/S0031182016000688>.
- Schlinkert, Hella, Martin Ludwig, Péter Batáry, Andrea Holzschuh, Anikó Kovács-Hostyánszki, Teja Tscharntke, et Christina Fischer. 2016. « Forest Specialist and Generalist Small Mammals in Forest Edges and Hedges ». *Wildlife Biology* 22 (3): wlb.00855. <https://doi.org/10.2981/wlb.00176>.
- Schmid, Dominik W., Gloria Fackelmann, Wasimuddin, Jacques Rakotondranary, Yedidya R. Ratovonamana, B. Karina Montero, Jörg U. Ganzhorn, et Simone Sommer. 2022. « A Framework for Testing the Impact of Co-Infections on Host Gut Microbiomes ». *Animal Microbiome* 4 (1): 48. <https://doi.org/10.1186/s42523-022-00198-5>.
- Schwensow, Nina Isabell, Alexander Christoph Heni, Julian Schmid, B. Karina Montero, Stefan Dominik Brändel, Tanja Katharina Halczok, Gerd Mayer, et al. 2022. « Disentangling Direct from Indirect Effects of Habitat Disturbance on Multiple Components of Biodiversity ». *Journal of Animal Ecology* 91 (11): 2220-34. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.13802>.
- Seidl, Rupert, Dominik Thom, Markus Kautz, Dario Martin-Benito, Mikko Peltoniemi, Giorgio Vacchiano, Jan Wild, et al. 2017. « Forest Disturbances under Climate Change ». *Nature Climate Change* 7 (6): 395-402. <https://doi.org/10.1038/nclimate3303>.
- Smith, Katherine F., Michael Goldberg, Samantha Rosenthal, Lynn Carlson, Jane Chen, Cici Chen, et Sohini Ramachandran. 2014. « Global rise in human infectious disease outbreaks ». *Journal of The Royal Society Interface* 11 (101): 20140950. <https://doi.org/10.1098/rsif.2014.0950>.
- Spragge, Frances, Erik Bakkeren, Martin T. Jahn, Elizete B. N. Araujo, Claire F. Pearson, Xuedan Wang, Louise Pankhurst, Olivier Cunrath, et Kevin R. Foster. 2023. « Microbiome diversity protects against pathogens by nutrient blocking ». *Science* 382 (6676): eadj3502. <https://doi.org/10.1126/science.adj3502>.
- Stoddard, Robyn A., Jay E. Gee, Patricia P. Wilkins, Karen McCaustland, et Alex R. Hoffmaster. 2009. « Detection of pathogenic *Leptospira* spp. through TaqMan polymerase chain reaction targeting the LipL32 gene ». *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 64 (3): 247-55. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2009.03.014>.
- Stothart, Mason R., Rupert Palme, et Amy E. M. Newman. 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): 20192111. <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.2111>.
- Strandin, Tomas, Simon A. Babayan, et Kristian M. Forbes. 2018. « Reviewing the effects of food provisioning on wildlife immunity ». *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 373 (1745): 20170088. <https://doi.org/10.1098/rstb.2017.0088>.
- Stromberg, Bert E. 1997. « Environmental factors influencing transmission ». *Veterinary Parasitology*, Fourth Ostertagia Workshop: Nematode Parasites of Importance to Ruminant Livestock, 72 (3): 247-64. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(97\)00100-3](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(97)00100-3).
- Sugden, Scott, Dana Sanderson, Kyra Ford, Lisa Y. Stein, et Colleen Cassady St. Clair. 2020. « An Altered Microbiome in Urban Coyotes Mediates Relationships between Anthropogenic Diet and Poor Health ». *Scientific Reports* 10 (1): 22207. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78891-1>.
- Sweeny, Amy R., Melanie Clerc, Paulina A. Pontifes, Saudamini Venkatesan, Simon A. Babayan, et Amy B. Pedersen. 2021. « Supplemented nutrition decreases helminth burden and increases drug efficacy in a natural host–helminth system ». *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 288 (1943): 20202722. <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.2722>.
- Telfer, Sandra, Xavier Lambin, Richard Birtles, Pablo Beldomenico, Sarah Burthe, Steve Paterson, et Mike Begon. 2010. « Species Interactions in a Parasite Community Drive Infection Risk in a Wildlife Population ». *Science (New York, N.Y.)* 330 (6001): 243-46. <https://doi.org/10.1126/science.1190333>.
- Theriot, Casey M., Mark J. Koenigsknecht, Paul E. Carlson, Gabrielle E. Hatton, Adam M. Nelson, Bo Li, Gary B. Huffnagle, Jun Z. Li, et Vincent B. Young. 2014. « Antibiotic-Induced Shifts in the Mouse Gut Microbiome and Metabolome Increase Susceptibility to Clostridium Difficile Infection ». *Nature Communications* 5 (1): 3114. <https://doi.org/10.1038/ncomms4114>.

- Todd, I. A., T. E. Tew, et D. W. Macdonald. 2000. « Arable Habitat Use by Wood Mice (*Apodemus Sylvaticus*). 1. Macrohabitat ». *Journal of Zoology* 250 (3): 299-303. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2000.tb00773.x>.
- Tufto, Jarle, Reidar Andersen, et John Linnell. 1996. « Habitat Use and Ecological Correlates of Home Range Size in a Small Cervid: The Roe Deer ». *Journal of Animal Ecology* 65 (6): 715-24. <https://doi.org/10.2307/5670>.
- Ullman-Culleré, M. H., et C. J. Foltz. 1999. « Body Condition Scoring: A Rapid and Accurate Method for Assessing Health Status in Mice ». *Laboratory Animal Science* 49 (3): 319-23.
- Van Leeuwen, Pauline, et Johan Michaux. 2023. « Using eDNA for Mammal Inventories Still Needs Naturalist Expertise, a Meta-Analysis ». *Ecology and Evolution* 13 (12): e10788. <https://doi.org/10.1002/ece3.10788>.
- Vieira, Marcus V., Natalie Olifiers, Ana C. Delciellos, Vanina Z. Antunes, Luis R. Bernardo, Carlos E. V. Grelle, et Rui Cerqueira. 2009. « Land use vs. fragment size and isolation as determinants of small mammal composition and richness in Atlantic Forest remnants ». *Biological Conservation, Conservation Issues in the Brazilian Atlantic Forest*, 142 (6): 1191-1200. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.02.006>.
- Voutilainen, Liina, Sakeri Savola, Eva Riikka Kallio, Juha Laakkonen, Antti Vaheri, Olli Vapalahti, et Heikki Henttonen. 2012. « Environmental Change and Disease Dynamics: Effects of Intensive Forest Management on Puumala Hantavirus Infection in Boreal Bank Vole Populations ». *PloS One* 7 (6): e39452. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039452>.
- Watts, C. H. S. 1968. « The Foods Eaten by Wood Mice (*Apodemus sylvaticus*) and Bank Voles (*Clethrionomys glareolus*) in Wytham Woods, Berkshire ». *Journal of Animal Ecology* 37 (1): 25-41. <https://doi.org/10.2307/2709>.
- Wilder, Shawn M., David Raubenheimer, et Stephen J. Simpson. 2016. « Moving beyond Body Condition Indices as an Estimate of Fitness in Ecological and Evolutionary Studies ». *Functional Ecology* 30 (1): 108-15. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12460>.
- Zemanova, Miriam A. 2020. « Towards More Compassionate Wildlife Research through the 3Rs Principles: Moving from Invasive to Non-Invasive Methods ». *Wildlife Biology* 2020 (1): wlb.00607. <https://doi.org/10.2981/wlb.00607>.