



HAL
open science

Le virome des chauve-souris : diversité et facteurs de variation

Guillaume Kennel

► **To cite this version:**

Guillaume Kennel. Le virome des chauve-souris : diversité et facteurs de variation. Médecine vétérinaire et santé animale. 2022. dumas-03845601

HAL Id: dumas-03845601

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03845601v1>

Submitted on 9 Nov 2022

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

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

LE VIROME DES CHAUVE-SOURIS : DIVERSITE ET FACTEURS DE VARIATION

THESE D'EXERCICE

pour obtenir le titre de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

KENNEL Guillaume

Directeur de thèse : M. Stéphane BERTAGNOLI

JURY

PRESIDENT :

Monsieur Christophe PASQUIER

Professeur à l'Université Paul SABATIER Vétérinaire de TOULOUSE

ASSESEURS :

M. Stéphane BERTAGNOLI

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Mme Christelle CAMUS

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Liste des directeurs/assesseurs de thèse de doctorat vétérinaire

Directeur : Professeur Pierre SANS

**PROFESSEURS CLASSE
EXCEPTIONNELLE**

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Pharmacologie, thérapeutique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et industrie des aliments d'origine animale*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, statistiques, modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la reproduction, endocrinologie*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie médicale animale et comparée*

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et industrie des aliments*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, anatomie pathologique*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et thérapeutique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des ruminants*

PROFESSEURS 2^{ème} CLASSE

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des équidés et des carnivores*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation animale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, imagerie médicale*
- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles*
- M. **RABOISSON Didier**, *Médecine de population et économie de la santé animale*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la reproduction*
- Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et industrie des denrées alimentaires d'origine animale*
- Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et mathématiques*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mme **PRYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et infectiologie*

MAITRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **BRET Lydie**, *Physique et chimie biologiques et médicales*
- Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie, imagerie médicale*
- M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
- Mme **DANIELS Hélène**, *Immunologie, bactériologie, pathologie infectieuse*
- Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **DIDIMO IMAZAKI Pedro**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
- Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- Mme **GRANAT Fanny**, *Biologie médicale animale*
- Mme **JOURDAN Géraldine**, *Anesthésie, analgésie*
- M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des équidés*
- Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
- M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
- M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire, maladies animales règlementées*
- Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

INGENIEURS DE RECHERCHE

- M. **AUMANN Marcel**, *Urgences, soins intensifs*
- M. **AUVRAY Frédéric**, *Santé digestive, pathogénie et commensalisme des entérobactéries*
- M. **CASSARD Hervé**, *Pathologie des ruminants*
- M. **CROVILLE Guillaume**, *Virologie et génomique cliniques*
- Mme **DEBREUQUE Maud**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- Mme **DIDIER Caroline**, *Anesthésie, analgésie*
- Mme **DUPOUY GUIRAUTE Véronique**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
- Mme **GAILLARD Elodie**, *Urgences, soins intensifs*
- Mme **GEFFRE Anne**, *Biologie médicale animale et comparée*
- Mme **GRISEZ Christelle**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **JEUNESSE Elisabeth**, *Bonnes pratiques de laboratoire*
- Mme **PRESSANTI Charline**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **RAMON PORTUGAL Félipe**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
- M. **REYNOLDS Brice**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- Mme **ROUCH BUCK Pétra**, *Médecine préventive*

Remerciements

A Monsieur le Professeur Christophe PASQUIER

De l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse,

Qu'il trouve ici l'expression de mes hommages respectueux.

A Monsieur le Professeur Stéphane BERTAGNOLI

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Pour m'avoir fait l'honneur de m'encadrer,

Pour son soutien et sa disponibilité,

Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

A Madame le Docteur Christelle CAMUS

Enseignante en Biologie Moléculaire à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de juger ce travail,

Qu'elle trouve ici l'expression de mes sincères remerciements.

Table des matières

Table des matières	7
Liste des annexes.....	9
Liste des figures	10
Liste des tableaux.....	13
Liste des abréviations.....	14
Introduction.....	15
I. Caractéristiques écologiques et comportementales des chiroptères et leur impact sur le portage viral	17
I.1. Classification	17
I.2. Habitat.....	19
I.2.i. Espèces cavernicoles	20
I.2.ii. Espèces utilisant les crevasses	21
I.2.iii. Espèces sylvicoles.....	22
I.2.iv. Espèces utilisant des gîtes à l'air libre	22
I.2.v. Des habitats interspécifiques	23
I.3. Comportements sociaux.....	24
I.4. Reproduction	28
I.5. Alimentation.....	31
I.5.i. Espèces insectivores	31
I.5.ii. Espèces frugivores et nectarivores.....	32
I.5.iii. Espèces carnivores.....	33
I.5.iv. Espèces sanguinivores	34
I.6. Profil type des espèces les plus à risques.....	35
II. Le virome et son étude technique, à l'origine de biais et variation de résultats..	39
II.1. Qu'est-ce qu'un virome et comment l'étudier ?	39
II.1.i. Recherche ciblée	39
II.1.ii. L'analyse par métagénomique	40
II.1.iii. Comparaison des méthodes d'analyse	42

II.2.	Biais liés à la partie du virome étudiée	43
II.2.i.	Le virome digestif.....	43
II.2.ii.	Le virome systémique	46
II.3.	Traitement des échantillons.....	48
II.3.i.	Extraction des acides nucléiques viraux	48
II.3.ii.	Séquençage des prélèvements.....	50
II.4.	Traitement des séquences générées	51
II.4.i.	Contrôle de qualité et filtrage des séquences générées	52
II.4.ii.	L'assemblage.....	53
II.4.iii.	Classification et identification des séquences	56
III.	Richesse virale des chiroptères et ses facteurs prédisposants.....	59
III.1.	Diversité du portage viral.....	60
III.2.	Variations liées aux caractéristiques propres à l'espèce	62
III.2.i.	Influence de la taille de l'espèce	64
III.2.ii.	Influence de l'espérance de vie.....	65
III.2.iii.	Influence du nombre de portée par an.....	65
III.2.iv.	Influence de la distribution géographique	66
III.2.v.	Influence du statut de conservation	66
III.2.vi.	Influence du régime alimentaire.....	68
III.2.vii.	Influence des comportements migratoire et d'hibernation	68
III.2.viii.	Influence du type de perchage	69
III.3.	Variations liées aux caractéristiques propres à la colonie	69
III.3.i.	Influence de l'altitude	71
III.3.ii.	Influence de la latitude	72
III.3.iii.	Influence de l'anthropisation des territoires	72
III.3.iv.	Influence de la taille de la colonie	73
III.3.v.	Influence de la proportion d'adulte	74
III.4.	Effets des biais statistiques sur la richesse virale	75
	Conclusion.....	77
	Bibliographie.....	81
	Annexes.....	90

Liste des annexes

Annexe 1. Classification actuelle des Chiroptères (Wilson, Mittermeier, Cavallini 2009)	90
Annexe 2. Pattern de reproduction des chauves-souris femelles en fonction de leur famille (Racey, Entwistle 2000)	91
Annexe 3. Résumé des caractéristiques de l'écologie des différentes familles de chiroptères (Racey, Entwistle 2000; University of Michigan Museum of Zoology 2022)	92
Annexe 4. Virus infectant les mammifères détectés chez les chiroptères	95

Liste des figures

Figure 1. Relations phylogénétiques des Chiroptères. Extrait de (Racey, Entwistle 2000)	18
Figure 2. Distribution géographique des chauves-souris, d'après les données de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (Salmier 2016)	19
Figure 3. Colonie de <i>Miniopterus australis</i> , une espèce cavernicole (Newman, Food and Agriculture Organization of the United Nations 2011).....	21
Figure 4. Exemple de chauves-souris nichant dans les crevasses, Issu du site internet Faune et Flore du pays https://www.hww.ca/fr/faune/mammiferes/les-chauves-souris.html Photo de Karen Vanderwolf	22
<i>Figure 5. Comportement arboricole d'un groupe de roussettes (Newman, Food and Agriculture Organization of the United Nations 2011)</i>	23
Figure 6. Gîte de <i>Lophostoma silvicolum</i> dans une termitière (http://aramel.free.fr/INSECTES8-2.shtml , photo de J.P.Marino, Costa-Rica).....	25
Figure 7. Deux <i>Diphylla ecaudata</i> se partageant un repas de sang. Photo de C. Elizalde-Arellano (Elizalde-Arellano et al. 2007).....	26
Figure 8. Femelle (à gauche) et mâle (droite) <i>Hypsignathus monstrosus</i> , illustrant le dimorphisme sexuel dans cette espèce (Allen 1990) photo de J. Cohen.	28
Figure 9. Cycle de reproduction prédominant chez les chauves-souris femelles hibernantes (Oxberry 1979).....	29
Figure 10. <i>Tonatia silvicola</i> , espèce insectivore ayant attrapé une sauterelle en plein vol. © Merlin D. Tuttle, Bat Conservation International/Photo Researchers, Inc. (https://www.britannica.com/animal/bat-mammal/Food-habits)	32
Figure 11. <i>Epomophorus wahlbergi</i> , frugivore, se nourrissant de figes sauvages. Jane Burton/Bruce Coleman Inc. (https://www.britannica.com/animal/bat-mammal/Food-habits).....	33
Figure 12. <i>Vampyrum spectrum</i> en pleine chasse de rongeur, photo de Adana Varma, National geographic (https://www.nationalgeographic.com/magazine/article/ancient-temple-reveals-secrets-of-mexicos-meat-eating-bats)	34
Figure 13. <i>Desmodus rotundus</i> durant un repas de sang sur un mammifère https://www.reddit.com/r/Awwducational/comments/2kwutt/the_vampire_bat_desmodus_rotundus_can_consume/	35

Figure 14. Principe des analyses métagénomiques par séquençage nouvelle génération (Harvey, Holmes 2022).....	41
Figure 15. Prélèvement de salive avec un écouvillon sur un individu de l'espèce <i>Myotis daubentonii</i> (Hammarin et al. 2016).	44
Figure 16. Différentes étapes du prélèvement de guano. A et B. Bâches en plastique placées sous les lieux de perchage des chauves-souris. C. Récupération du guano sur le plastique. D. Echantillon placé dans un tube de milieu de conservation. (Edwards et al. 2019)	44
Figure 17. Distribution des séquences virales obtenues par analyse métagénomique sur des femelles juvéniles <i>Eptesicus fuscus</i> par prélèvement oral (F) et fécal (A) (Donaldson et al. 2010)	46
Figure 18. Différentes étapes de l'autopsie de <i>Pteropus alecto</i> et prélèvements de tissus pour une étude métagénomique (Irving et al. 2020).....	47
Figure 19. Exemple de protocole de purification par ultracentrifugation adaptée à un rotavirus (Nakagomi 2013)	49
Figure 20. Protocole d'analyse métagénomique communément utilisé (Breitwieser, Lu, Salzberg 2019)	52
Figure 21. Description du principe de fonctionnement des méthodes d'assemblage de novo (Ghurye, Cepeda-Espinoza, Pop 2016).....	55
Figure 22. Nombre de séquences virales séparées par familles de virus associé à la famille de chiroptère hôte correspondante selon la base de données NCBI. (a) familles virales à ARN et (b) familles virales à ADN (Van Brussel, Holmes 2022)....	63
Figure 23. Distribution des séquences virales obtenues par analyse métagénomique sur des mâles juvéniles <i>Eptesicus fuscus</i> (B) et <i>Peimyotis subflavus</i> (E) par prélèvement fécal (Donaldson et al. 2010)	64
Figure 24. Relation entre le statut de conservation et la richesse virale parmi 32 espèces de chauves-souris. NT/VU signifie near-threatened/vulnerable pour quasi-menacé/vulnérable et LT signifie least concern pour préoccupation mineure (Turmelle, Olival 2009).	67
Figure 25. Etude de la richesse virale en fonction de l'altitude de la colonie de <i>Desmodus rotundus</i> et modélisation par modèles linéaires généralisés de la relation entre ces deux paramètres en supposant qu'elle soit univariée. Les couleurs correspondent aux différentes écorégions du Pérou (Bleu : la côte, Vert : les Andes, Mauve : l'Amazonie) (Bergner et al. 2020)	71

Figure 26. Etude de la richesse virale en fonction de la densité du bétail sur le territoire de *Desmodus rotundus* et modélisation par modèles linéaires généralisés de la relation entre ces deux paramètres en supposant qu'elle soit univariée. Les couleurs correspondent aux différentes écorégions du Pérou (Bleu : la côte, Vert : les Andes, Mauve : l'Amazonie) (Bergner et al. 2020) 73

Figure 27. Etude de la richesse virale en fonction de la proportion d'adulte dans la population de *Desmodus rotundus* et modélisation par modèles linéaires généralisés de la relation entre ces deux paramètres en supposant qu'elle soit univariée. Les couleurs correspondent aux différentes écorégions du Pérou (Bleu : la côte, Vert : les Andes, Mauve : l'Amazonie) (Bergner et al. 2020) 75

Liste des tableaux

Tableau 1. Résumé sur les virus zoonotiques et non zoonotiques identifiés chez les rongeurs et les chiroptères (Zhang et al. 2013)	61
Tableau 2. Virus identifiés par analyse métagénomique, classés par espèce hôte et province d'origine de l'individu (He et al. 2013)	70

Liste des abréviations

AAV : Adeno-Associated Virus

ADN ou DNA : Acide Désoxyribonucléique

AdV : Adénovirus

ARN ou RNA : Acide Ribonucléique

AstV : Astrovirus

BLAST : Basic Local Alignment Search Tool

BoV : Bocavirus

CV : Circovirus

DLP : Double-Layered Particle

DNases : Désoxyribonucléases

H.A. : *Hipposideros armiger*

H.F. : *Hipposideros fulvus*

IfV : Iflavivirus

LC : Least Concerned, signifiant préoccupation mineure

SARS-CoV : Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus

M.C. : *Myotis chinensis*

MERS-CoV : Middle-East Respiratory Syndrome Coronavirus

M.F. : *Miniopterus fuliginosus*

M.L. : *Megaderma lyra*

NCBI : National Center for Biotechnology Information

NT : Near-Threatened, signifiant quasi-menacé

PCR : Polymerase Chain Reaction

R.F. : *Rhinolophus ferrumequinum*

TLP : Triple-Layered Particle

UICN ou IUCN : Union Internationale pour la Conservation de la Nature

VU : Vulnérable

Introduction

Les virus correspondent à l'entité biologique la plus variée et la plus abondante. Ils sont capables d'infecter tout type d'être vivant, leur permettant ainsi d'effectuer leur cycle de réplication. La virosphère, c'est-à-dire l'ensemble des virus sur Terre, reste cependant très mal connue. En effet la notion de virus est relativement récente, ils n'ont été clairement identifiés qu'à la fin du XIX^{ème} siècle (Loeffler, Frosch 1898).

Malgré les nombreuses études menées, l'immense majorité de la virosphère n'est pas encore décrite. Or, environ 75% des maladies infectieuses émergentes chez l'Homme sont des zoonoses avec pour étiologie un virus d'origine animale (Carroll et al. 2018; Hermida Lorenzo et al. 2021). Il s'agit de la raison pour laquelle il paraît indispensable d'étudier la partie virale du microbiome des animaux, aussi appelée virome, dans l'espoir de pouvoir anticiper au maximum une éventuelle pandémie.

Certains animaux semblent présenter une plus grande propension à héberger des virus à potentiel zoonotique. C'est notamment le cas des chiroptères, plus communément appelés chauves-souris, qui sont décrits comme un des plus importants réservoirs naturels de virus zoonotiques. En effet les chiroptères sont considérés comme source avérée ou fortement probable de multiples épidémies virales humaines telles que la rage, les virus Ebola et Marburg, les virus Hendra et Nipah, le Severe Acute Respiratory Syndrome coronavirus (SARS-CoV), le Middle East Respiratory Syndrome coronavirus (MERS-CoV) et dernièrement le SARS-CoV-2 (Li et al. 2021). Cela en fait une espèce de choix dans la surveillance par l'analyse du virome animal.

Cette forte propension à être réservoir de virus zoonotique est due à des caractéristiques propres aux chiroptères qui favorisent un portage viral important sans manifestation clinique. De plus, le très grand nombre d'espèces de chauves-souris est à l'origine d'une grande diversité dans les caractéristiques écologiques observées qui est elle-même la source d'une certaine variabilité du virome des chiroptères.

Ce travail propose une synthèse bibliographique des connaissances actuelles à ce sujet. La première partie rappellera les caractéristiques écologiques des chauves-souris, leur diversité et leur impact suspecté sur le portage viral. La seconde partie portera sur les moyens techniques d'analyses du virome et les biais technologiques qui en découlent. La dernière partie aura pour but de faire une synthèse des différents facteurs de variation de la richesse virale ayant été décrits dans la littérature.

I. Caractéristiques écologiques et comportementales des chiroptères et leur impact sur le portage viral

I.1. Classification

L'origine des Chiroptères est estimée à plus de 60 millions d'années (dos Reis, Donoghue, Yang 2014). Ils constituent l'ordre Chiroptera, qui lui-même appartient à la classe des mammifères. Il s'agit d'un ordre étant caractérisé par une très grande diversité d'espèces. En effet, il représente le deuxième ordre des mammifères en termes de nombre d'espèces, derrière les rongeurs. Ce nombre est de plus de 1400 espèces différentes, soit quasiment un quart des espèces de mammifères connues à ce jour et toujours vivantes. Cependant la totalité des espèces de chiroptères n'est pas encore connue, il s'agit donc uniquement d'une estimation (Wilson, Mittermeier, Cavallini 2009).

Historiquement, jusqu'à la fin des années 1990, les Chiroptères étaient séparés en deux sous-ordres : les microchiroptères et les mégachiroptères. Cette classification était faite en fonction de caractéristiques morphologiques et la capacité ou non de réaliser de l'écholocation (Simmons 2005). Les espèces alors classées dans les mégachiroptères sont en général de plus grande taille que les microchiroptères et ne possèdent pas la capacité de réaliser de l'écholocation. Toutefois certaines grandes espèces appartenant aux microchiroptères sont de taille supérieure à celle de petites espèces de mégachiroptères.

Cependant le développement des méthodes d'analyses moléculaires a permis de mettre en évidence des relations phylogénétiques étroites entre des familles des deux sous-ordres, remettant en cause cette première classification (Amador et al. 2018). Grâce à ces données, deux nouveaux clades ont été créés pour remplacer les deux anciens sous-ordres (Figure 1) : Yinpterochiroptera, regroupant les mégachiroptères et certains microchiroptères et Yangochiroptera. Cela permet ainsi de classer les 21 familles et 230 genres de chauves-souris répertoriés (Annexe 1) (Wilson, Mittermeier, Cavallini 2009). Des réévaluations fréquentes de la

classification sont réalisées, lorsque de nouvelles données phylogénétiques sont obtenues.

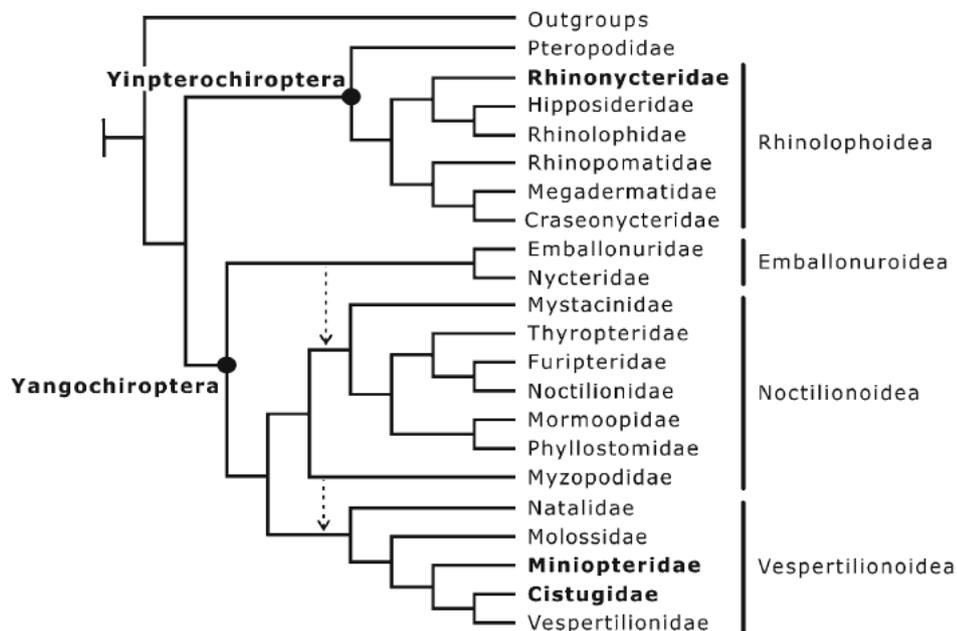


Figure 1. Relations phylogénétiques des Chiroptères. Extrait de (Racey, Entwistle 2000)

La remarquable diversité des chiroptères ne se limite pas à son grand nombre d'espèces, elle se retrouve aussi dans l'ensemble de leurs caractéristiques biologiques et écologiques qui sont propres à chacune de ces espèces. Cela se manifeste par une grande variété dans les régimes alimentaires, les aires de répartitions géographiques, les organisations sociales et les comportements migratoires et de reproduction. Tous ces paramètres influencent la sensibilité, l'exposition et les mécanismes de contamination virale et ainsi sont à l'origine d'une richesse virale qui est unique à chaque membre de l'ordre des Chiroptères.

En effet, en considérant que les modalités de transmission des virus chez les chauves-souris peuvent être assimilées à celles observées chez les autres mammifères, les voies de contaminations sont les suivantes :

- Inhalation d'aérosols ou de fines particules sèches,
- Oro-fécale,
- Alimentaire,
- Parentérale par des griffures, morsures ou autres blessures,
- Sexuelle,

- Transmission verticale par voie transplacentaire ou lors de la mise-bas,
- Piqûres par des arthropodes.

Tous ces moyens de diffusion des virus sont dépendants des caractéristiques biologiques et écologiques propres à chaque espèce de chiroptères. L'étude de ces données est donc étroitement liée aux travaux sur le portage viral de cet ordre de mammifères.

I.2. Habitat

Les représentants de l'ordre Chiroptera se retrouvent sur tous les continents, excepté l'Antarctique. Mis à part les pôles, quelques îles océaniques et en très haute altitude, l'ensemble des territoires abrite des chiroptères. Il est donc possible de retrouver des espèces de chauves-souris dans une grande variété de zones climatiques : tempérée, désertique, continentale et tropicale. La plus grande diversité, tant en nombre de familles que d'espèces, se trouve au niveau des forêts tropicales d'Amérique du Sud (Figure 2). Les caractéristiques écologiques de chaque espèce sont étroitement liées avec le climat pour permettre une meilleure adaptation à leur milieu. L'influence se manifeste sur le régime alimentaire, le comportement d'hibernation, de migration mais aussi sur les types de gîtes utilisés.

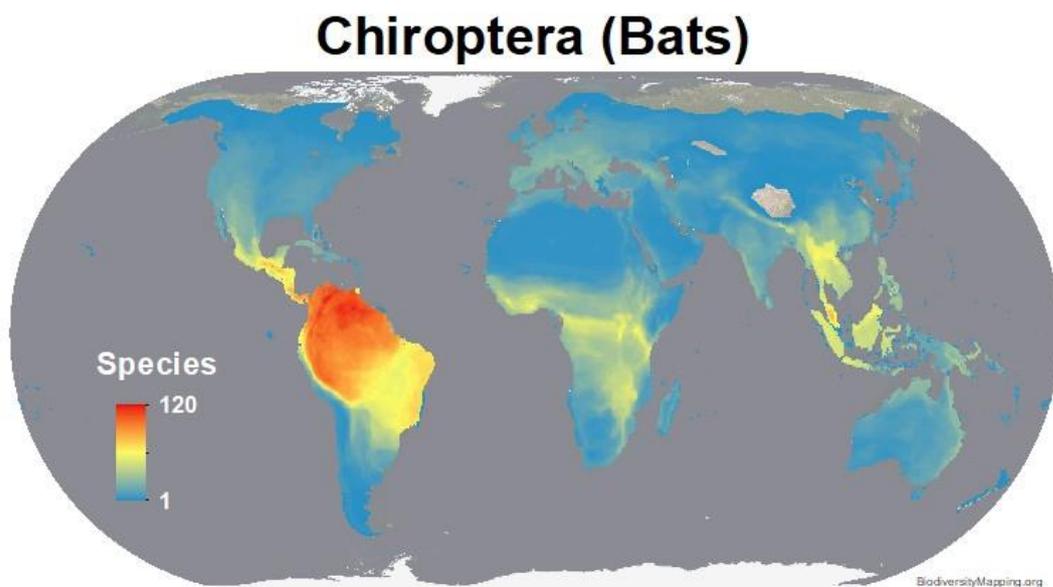


Figure 2. Distribution géographique des chauves-souris, d'après les données de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (Salmier 2016)

Les gîtes jouent un rôle important dans l'écologie et l'évolution des chiroptères, car elles y passent la moitié de leur vie, représentant ainsi le lieu principal de contamination virale. Ils constituent à la fois des sites de reproduction, d'hibernation et d'élevage des jeunes, favorisent les interactions sociales et offrent une protection contre les prédateurs et les conditions météorologiques.

L'écologie des lieux de nichage des chiroptères est complexe et multifactorielle et est donc fortement variable selon les espèces ce qui rend les généralisations difficiles. Certains chiroptères sont hautement dépendants du type de gîte, comme c'est le cas pour *Thyroptera tricolor* utilisant uniquement les faces internes lisses de feuilles (Findley, Wilson 1974), tandis que d'autres sont plus opportunistes, par exemple *Artibeus jamaicensis* qui se perche aussi bien dans des grottes que dans des cavités d'arbres ou leur feuillage (Kunz 1982). Il est possible de classer les gîtes en différents types : les nocturnes qui sont temporaires, les diurnes et les gîtes hivernaux.

Les abris diurnes peuvent aussi bien être utilisés par une chauve-souris solitaire que par une colonie de très nombreux individus : les chiroptères sont les mammifères formant les plus grands regroupements connus (Newman, Food and Agriculture Organization of the United Nations 2011). Aux Etats-Unis, une seule grotte héberge jusqu'à 20 millions de *Tadarida brasiliensis* (Davis, Herreid, Short 1962). Par conséquent, l'exposition et la probabilité de propagation de virus est extrêmement variable selon les gîtes en fonction de la densité de population notamment. Avec le postulat que les mécanismes de diffusion des virus est identique que pour les autres mammifères, les espèces vivant en très grandes colonies, dans des lieux clos et avec une densité élevée seraient plus susceptibles d'héberger une richesse virale plus importante.

1.2.i. Espèces cavernicoles

La plupart des familles de chiroptères utilisent les grottes comme refuge, de manière régulière ou occasionnelle (Figure 3). La répartition géographique de ces espèces est très hétérogène. En effet en zone tempérée, seule une très petite portion des grottes rassemble des conditions favorables aux chauves-souris. Par

exemple sur les 1635 grottes répertoriées en Alabama, seules 2,4% sont occupées par *Myotis grisescens* en été (Tuttle 1979). Au contraire, en zone tropicale l'environnement est beaucoup plus stable et adapté pour l'établissement de gîtes, ce qui permet d'exploiter la majorité des grottes existantes.



Figure 3. Colonie de *Miniopterus australis*, une espèce cavernicole (Newman, Food and Agriculture Organization of the United Nations 2011)

I.2.ii. Espèces utilisant les crevasses

Certaines chauves-souris occupent les espaces restreints dans la roche, au niveau de falaises par exemple, pour établir leur gîte (Figure 4). Cela semble être le type d'abri prédominant chez les Molossoïdes et Vespertilionidés des zones aride et semi-aride (Kunz 1982). Les colonies y sont généralement plus petites que pour les espèces cavernicoles. Chaque espèce possède son type de crevasse privilégié : verticale ou horizontale, de taille plus ou moins importante.



Figure 4. Exemple de chauves-souris nichant dans les crevasses, Issu du site internet Faune et Flore du pays <https://www.hww.ca/fr/faune/mammiferes/les-chauves-souris.html> Photo de Karen Vanderwolf

1.2.iii. Espèces sylvicoles

Les cavités présentes dans les troncs et branches d'arbres sont utilisées comme abri pour certaines espèces de chiroptères. Cela concerne essentiellement les régions à climat tropical et les chauves-souris ne vivent pas en grandes colonies. Cependant les rassemblements peuvent être de plusieurs dizaines d'individus, comme *Cardioderma cor* qui a été retrouvée dans des troncs de baobab par groupes allant jusqu'à 80 chauves-souris (Vaughan 1976). Les familles les plus représentées sont les Nycteridae, Rhinolophidae et les Hipposideridae. *Nyctalus noctula* en Europe centrale est une de ces espèces utilisant préférentiellement les troncs d'arbre comme gîte (Kunz 1982).

1.2.iv. Espèces utilisant des gîtes à l'air libre

Les chiroptères s'abritant dans le feuillage ont tendance à changer fréquemment de lieu où se percher. La grande majorité des espèces concernées se trouve en région tropicale et vit de manière solitaire. Les seules exceptions sont les plus grands des mégachiroptères qui peuvent vivre en colonies (Figure 5).



Figure 5. Comportement arboricole d'un groupe de roussettes (Newman, Food and Agriculture Organization of the United Nations 2011)

I.2.v. Des habitats interspécifiques

En outre, les gîtes diurnes font régulièrement l'objet d'une association interspécifique. La cause principale de ce phénomène semble être le fait que le nombre de cavités répondant aux conditions nécessaires pour l'établissement d'un abri est limité. Cela concerne essentiellement les espèces utilisant des grottes ou autres grandes cavités naturelles, en dehors des périodes de reproduction. Ces associations sont majoritairement fortuites. Cependant le cas de regroupements obligatoires est suggéré, notamment pour *Miniopterus australis* qui vit toujours en association avec *Miniopterus schreibersii* en Australie, dans les zones où le climat leur est moins favorable (Dwyer, P. D 1968). Ces associations interspécifiques permettent de réduire les dépenses énergétiques en augmentant le nombre et la proximité entre individus. Il existe aussi des inconvénients : la compétition pour les ressources comme l'espace et la nourriture, la diminution de la discrétion face aux prédateurs et l'augmentation des contacts directs et indirects intraspécifiques et interspécifiques pouvant favoriser la diffusion de pathogènes viraux, bactériens ou parasitaires.

D'autre part, les chiroptères utilisent aussi des abris nocturnes. Selon les espèces, ils servent de lieu pour manger, pour le repos ou de perchoir pour attendre les proies. Ils se situent donc proche des sources alimentaires et sont temporaires. Contrairement aux chauves-souris qui se regroupent en grandes colonies, les individus solitaires ou vivant en petit groupe ont tendance à moins utiliser de gîtes nocturnes mais plutôt retourner toujours dans leur abri diurne.

I.3. Comportements sociaux

Parmi les plus de 1400 espèces de chiroptères décrites, les comportements sociaux retrouvés chez les chauves-souris sont d'une grande diversité. Cela va des individus solitaires à ceux vivant dans un groupe identique toute leur vie avec un organisation bien définie, en passant par les espèces formant des colonies de manière saisonnière uniquement. En effet les chiroptères des zones tropicales maintiennent de manière générale des interactions toute l'année, alors que les contacts des espèces de zones tempérées peuvent être restreints à des périodes plus ou moins courtes de l'année, avec des rassemblements uniquement pendant la période d'hibernation (McCracken 2006). Les comportements sociaux entre individus qui peuvent être observés sont principalement dus aux activités de nichage, de recherche de nourriture, d'alimentation et de protection des petits (Wilkinson et al. 2016).

En plus de partager un même gîte afin de diminuer les risques de prédation par dilution et limiter les dépenses énergétiques pour la thermorégulation, les gîtes sont à l'origine d'interactions entre individus. Les chauves-souris ayant pour abri les cavités dans les troncs d'arbres recrutent souvent d'autres individus pour partager leur gîte. Pour cela certaines espèces qui en ont la capacité utilisent l'écholocation ou des signaux de faibles fréquences qui diffusent plus loin que l'écholocation (Chaverri, Gillam, Vonhof 2010). C'est le cas notamment de *Myotis bechsteinii* qui est capable de maintenir des relations indifférentes des liens de parenté et se

rassemble par affinité entre elles et non uniquement par attrait pour un type de gîte en commun (Kerth, Perony, Schweitzer 2011).

La grande majorité des chiroptères est inapte à la construction de gîtes et utilise des cavités déjà existantes. Ce n'est pas le cas de toutes les chauves-souris, par exemple *Lophostoma silvicolum* se réfugie dans des cavités qu'elle creuse dans des termitières (Dechmann, Kerth 2008) (Figure 6). Cependant aucune coopération n'a été décrite pour la fabrication d'abri chez les chiroptères (Wilkinson et al. 2016).



Figure 6. Gîte de *Lophostoma silvicolum* dans une termitière (<http://aramel.free.fr/INSECTES8-2.shtml>, photo de J.P.Marino, Costa-Rica)

Les chauves-souris utilisant l'écholocation pour chasser leurs proies émettent un signal spécifique juste avant la capture. Celui-ci peut être entendu par d'autres individus de la même espèce qui ainsi sauront vers quel endroit se diriger pour trouver de la nourriture. Il s'agit d'une coopération considérée pour certaines espèces comme du parasitisme social. Cependant une étude suggère que chez *Noctolio albiventrus* et *Molossus molossus*, des espèces néotropicales, la recherche de proies se fait volontairement par petits groupes afin de faciliter la recherche d'insectes se déplaçant en essaim et relativement difficiles à localiser (Dechmann et al. 2010). De même, des preuves de coopération dans l'exploitation et la défense de ressources

alimentaires ont été mises en évidence. Par exemple *Desmodus rotundus* tolère ou défend d'autres individus de s'approcher du bétail sur lequel leur repas a eu lieu (Wilkinson 2019).

Le partage de nourriture est fréquent chez de nombreuses espèces de chauves-souris. Toutefois il est relativement rare entre adultes n'ayant aucun lien de parenté : il est observé uniquement chez les trois espèces de chiroptères vampires (*Desmodus rotundus*, *Diphylla ecaudata* et *Diaemus youngi*). Ce comportement a été décrit chez le vampire à pattes velues (*Diphylla ecaudata*) entre adultes et subadultes, de même sexe ou non, n'ayant pas réussi à trouver une proie pour se nourrir (Elizalde-Arellano et al. 2007). Les bénéfices réciproques et les affinités entre individus semblent orienter ce partage. Une étude a montré qu'un individu a neuf fois plus de chances de partager sa nourriture avec un animal lui ayant déjà partagé la sienne ou ayant participé à son toilettage qu'avec un individu ayant un lien de parenté (Carter, Wilkinson 2013). Pour les autres chiroptères il se retrouve uniquement pour les nourrissages des plus jeunes. En outre, les chauves-souris ont une capacité de stockage énergétique très limitée, les risques de mort par manque d'apport alimentaire sont donc réduits grâce à toutes ces modalités de partage de nourriture, se faisant par régurgitation (Figure 7).



Figure 7. Deux *Diphylla ecaudata* se partageant un repas de sang. Photo de C. Elizalde-Arellano (Elizalde-Arellano et al. 2007)

Les femelles de nombreuses espèces de chauves-souris élèvent leurs petits dans des groupes, nommés communément « crèches ». Les juvéniles économisent alors leurs dépenses énergétiques en se réchauffant en se blottissant les uns contre les autres. Les adultes viennent au minimum deux fois par jour s'occuper de leurs petits, notamment pour les nourrir. Entre deux repas de lait, les petits se déplacent librement dans la crèche. La reconnaissance mère-petit est à la fois olfactive et par le biais de vocalises et elle est mutuelle. Chez *Tadarida brasiliensis mexicana*, il a été décrit des cas d'allaitement entre un adulte et un juvénile sans lien de parenté. Cela reste cependant très nettement minoritaire (McCracken, Gustin 2010). De plus, une étude a montré que certaines femelles *Phyllostomus hastatus* retardent leur recherche de nourriture afin de surveiller le groupe de juvéniles de la colonie. Ainsi au moins une femelle est présente à la crèche pendant 73% du temps. La surveillance n'est pas répartie équitablement entre les femelles : ce sont principalement celles qui sont les plus âgées et qui ont les petits les plus jeunes qui s'en occupent (Wilkinson et al. 2016). Chez cette même espèce, il a été mis en évidence que les femelles protègent activement les petits de la crèche même ceux qui ne sont pas les leurs, et vont jusqu'à laisser leur petit pour voir celui qui est dans le besoin, comme c'est le cas lors de chute notamment (Bohn, Moss, Wilkinson 2009).

De plus, par comparaison aux autres mammifères, l'allaitement des chiroptères est long. Le sevrage ne se fait que lorsque les jeunes atteignent une taille proche des adultes. Les contacts mère-petit sont donc proportionnellement plus longs que la moyenne pour les mammifères, augmentant ainsi les chances de transmission intraspécifiques de pathogènes.

Indubitablement, ces comportements induisent des contacts directs et indirects de différentes natures favorisant ainsi la dissémination de pathogènes. Une hypothèse serait donc que les espèces ayant le plus de relations sociales soient des espèces ayant un portage viral plus important.

I.4. Reproduction

Le dimorphisme sexuel est présent chez certains chiroptères mais varie selon les espèces. De manière générale, il est plus marqué pour les chauves-souris tropicales que pour celles vivant en zone tempérée. Toutefois il n'existe pas de norme : la famille des Vespertilionidés est caractérisée par la différence de taille entre les femelles (qui sont plus grandes) et les mâles (Myers 1978) alors qu'à l'inverse le mâle *Hypsignathus monstrosus* est en moyenne plus grand que la femelle et se différencie grâce à son faciès qui présente un nez plus proéminent jouant le rôle d'atout de séduction (Allen 1990) (Figure 8). Pour un grand nombre d'autres espèces, il est plus difficile de différencier le sexe des individus uniquement par leur apparence physique.

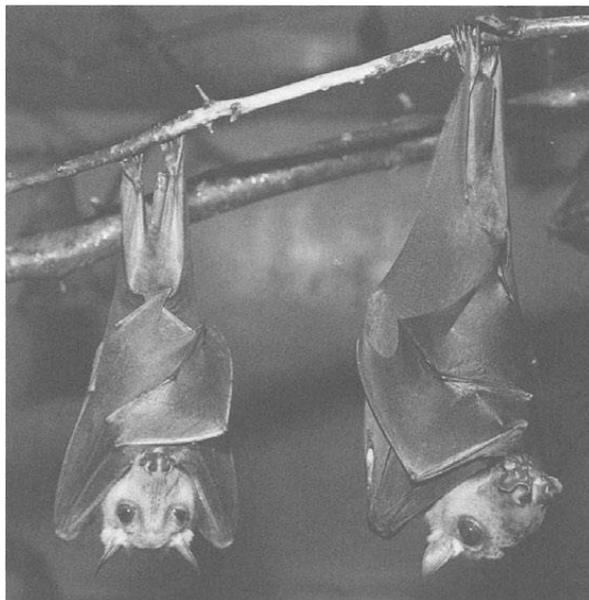


Figure 8. Femelle (à gauche) et mâle (droite) *Hypsignathus monstrosus*, illustrant le dimorphisme sexuel dans cette espèce (Allen 1990) photo de J. Cohen.

Du fait de la grande diversité d'espèces au sein de l'ordre des chiroptères, les modes de reproduction sont eux-mêmes très variés. De la monogamie a été décrite, tout comme des regroupements de mâles paradant pour essayer de séduire une femelle qui choisit un ou plusieurs partenaires. Certaines espèces, notamment les plus coloniales, se reproduisent via des modes d'accouplement plus libres, favorisant ainsi le brassage génétique mais aussi la diffusion des pathogènes avec des

contacts rapprochés et accouplements impliquant un plus grand nombre d'individus. La polygynie semble être le mode de reproduction le plus fréquemment observé : un mâle défend un harem de femelle pour garantir un accès exclusif (Kunz, Pierson 1994).

La grande majorité des espèces de zones tempérées a un cycle de reproduction saisonnier constitué d'un œstrus unique (Figure 9). Cela diffère pour les chauves-souris tropicales. Trois grands modèles ont été identifiés : les espèces avec un monoœstrus saisonnier, les polyœstrus saisonniers et les polyœstrus indépendants des saisons. Cette classification peut elle-même être précisée en dix types de cycles différents. Le nombre de portées par année peut ainsi être de deux à trois voire plus pour certaines espèces (Racey, Entwistle 2000) (Annexe 2). C'est le cas notamment de *Micropteropus pusillus* et *Epomops buettikoferi*, deux espèces de chauves-souris frugivores de l'ouest de l'Afrique. En effet une étude a montré qu'elles présentent deux périodes de naissances : au début du printemps et au début de l'automne avec une correspondance à maximum seize jours près entre les différentes années de l'étude (Thomas, Marshall 1984).

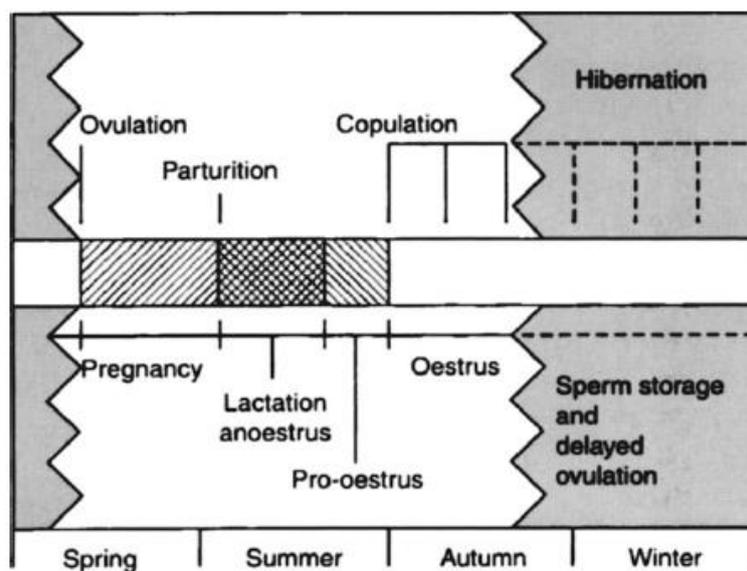


Figure 9. Cycle de reproduction prédominant chez les chauves-souris femelles hibernantes (Oxberry 1979)

L'intervalle entre l'accouplement et la parturition, habituellement fixe et définie par espèce chez les mammifères, peut être variable chez les chiroptères. En effet des mécanismes existent pour permettre d'ajuster le pic de mise-bas avec le pic de nourriture. Cela passe soit par l'allongement de la durée de la gestation, soit par le report de la conception. La fécondation différée est le mécanisme le plus commun, qui se retrouve chez la grande majorité des Rhinolophidae et Vespertilionidae réalisant une hibernation, à l'exception du genre *Miniopterus*. Pour un nombre limité d'espèces dont *Miniopterus schreibersii*, la fécondation a lieu immédiatement mais le blastocyte est en diapause pendant l'hibernation et l'implantation est retardée. De même, pour un nombre encore plus petit de chiroptères, une croissance embryonnaire différée a été décrite, notamment chez *Macrotus californicus*, une espèce semi-hibernante (Racey, Entwistle 2000).

En plus de ces décalages obligatoires, il existe des mécanismes facultatifs directement liés aux conditions environnementales pour les espèces des zones tempérées et subtropicales. Lorsque les conditions sont défavorables, le métabolisme est ralenti ce qui rallonge la durée de gestation par ralentissement de la croissance foetale (Racey, Entwistle 2000).

Lors d'une gestation, un compromis entre les fonctions de reproduction et d'immunité se met en place. Les hormones sexuelles peuvent moduler l'immunocompétence et réduire la résistance aux pathogènes (Luis et al. 2013). De même, les nouveau-nés sont des populations plus sensibles et encore naïves. Ainsi un plus grand nombre de portées par an entraîne un renouvellement fréquent de la population sensible permettant le maintien et la circulation de virus dans la population. A cela vient s'ajouter le phénomène de transmission virale verticale, pour lequel il ne semble pas y avoir de facteur prédisposant en tant que tel. Seule la prolificité serait à l'origine d'un plus grand nombre de contamination par voie verticale. La majorité des espèces n'a qu'un seul petit par portée.

1.5. Alimentation

Une des voies de transmission connues de pathogènes, et notamment des virus, est la voie alimentaire. Celle-ci peut être combinée à la contamination par voie oro-fécale à partir d'aliment souillés. L'analyse des habitudes alimentaires des chiroptères permet ainsi d'étudier leur degré d'exposition à cette source de contamination.

Comme pour leurs autres caractéristiques, le régime alimentaire des chiroptères est fortement impacté par la grande diversité d'espèces et est donc lui-même très varié.

1.5.i. Espèces insectivores

Ces espèces représentent la grande majorité des espèces de chiroptères. Elles se retrouvent dans toutes les différentes familles de microchiroptères et principalement dans les zones tempérées. En effet, toutes les chauves-souris vivant en-dessous de 40°Sud et au-dessus de 38°Nord sont des insectivores (Kunz, Pierson 1994). Les proies consommées incluent les insectes et arthropodes comme les papillons, araignées et petits crustacés terrestres (Figure 10). Certaines espèces ont un régime très spécifique, tandis que d'autres sont plus opportunistes et ont ainsi un régime plus varié. La capture des proies se fait généralement en plein vol. Hormis si cela est suivi d'un partage de repas par régurgitation avec un autre individu, ce mode d'alimentation est peu propice à la propagation intraspécifique et interspécifique de virus. Seuls les virus d'insectes peuvent ainsi être retrouvés dans la partie digestive du virome de ces chiroptères.



Figure 10. *Tonatia silvicola*, espèce insectivore ayant attrapé une sauterelle en plein vol. © Merlin D. Tuttle, Bat Conservation International/Photo Researchers, Inc. (<https://www.britannica.com/animal/bat-mammal/Food-habits>)

I.5.ii. Espèces frugivores et nectarivores

Ces régimes sont étroitement liés. Les espèces concernées consomment soit des fruits, soit du nectar et du pollen de fleur ou bien les deux. De nombreux chiroptères sont à la fois frugivores et nectarivores mais sont classés dans une catégorie unique en fonction de leur préférence alimentaire. Ces espèces appartiennent aux mégachiroptères et à quelques sous-familles des Phyllostomidae et représentent environ un quart des chiroptères recensés (Newman, Food and Agriculture Organization of the United Nations 2011). La consommation de fruits se fait directement sur l'arbre lorsqu'il est de taille trop importante, sinon il est déplacé dans la gueule des chauves-souris (Figure 11). De même les chiroptères vont directement sur l'arbre pour lécher le pollen et le nectar et mâcher les fleurs. Ce régime alimentaire induit la possibilité de contamination oro-fécale, dans les cas où les fruits ou fleurs ont été souillées par d'autres chauves-souris ayant établi leur gîte dans l'arbre concerné.



Figure 11. *Epomophorus wahlbergi*, frugivore, se nourrissant de figues sauvages. Jane Burton/Bruce Coleman Inc. (<https://www.britannica.com/animal/bat-mammal/Food-habits>)

1.5.iii. Espèces carnivores

Ces espèces sont parmi les moins nombreuses et appartiennent aux familles des Phyllostomidae, Megadermatidae, Nycteridae et Vespertilionidae (Gual-Suárez, Medellín 2021). Elles se situent dans les zones tropicales et subtropicales (Kunz, Pierson 1994). Elles se nourrissent spécifiquement de petits animaux comme des oiseaux, poissons, lézards, rongeurs ou batraciens (Figure 12). Mais il existe aussi des chauves-souris prédatrices d'autres espèces de chiroptères. Dans ce contexte, ce mode d'alimentation peut être à l'origine de propagation virale, que ce soit lors de blessures s'il y a combat entre le prédateur et la proie, ou bien par consommation d'un animal lui-même porteur d'un virus.



Figure 12. *Vampyrum spectrum* en pleine chasse de rongeur, photo de Adana Varma, National geographic (<https://www.nationalgeographic.com/magazine/article/ancient-temple-reveals-secrets-of-mexicos-meat-eating-bats>)

I.5.iv. Espèces sanguivores

Il n'existe que trois espèces de chauves-souris sanguivores : *Desmodus rotundus*, la plus populaire, *Diphylla ecaudata* et *Diaemus youngi*. Elles sont toutes les trois localisées en Amérique latine, entre le nord-est du Mexique et le nord de l'Argentine. La chauve-souris vampire commune (*D. rotundus*) réalise ses repas de sang sur les mammifères, préférentiellement le bétail (Figure 13). Les deux autres espèces ont les oiseaux pour proies préférentielles (Wilkinson 2019). Ce mode d'alimentation favorise la propagation interspécifique de virus par transmission sanguine directe. Il existe aussi un risque de contamination intraspécifique indirecte avec la possibilité dans un premier temps de transmission d'une chauve-souris à la proie, puis dans un second temps la transmission de la proie contaminée au chiroptère réalisant son repas de sang sur le même animal.



Figure 13. *Desmodus rotundus* durant un repas de sang sur un mammifère
https://www.reddit.com/r/Awwducational/comments/2kwutt/the_vampire_bat_desmodus_rotundus_can_consume/

Ainsi le régime alimentaire semble être un facteur pouvant prédisposer à un plus grand risque de contamination virale. En effet les espèces carnivores et sanguinivores seraient les plus exposées aux contaminations par des virus de mammifères ou d'oiseaux, alors que les insectivores le serait le moins.

I.6. Profil type des espèces les plus à risques

En utilisant les informations sur l'écologie des différentes espèces de chiroptères évoquées précédemment, il est possible de construire un profil type de chauve-souris qui serait susceptible d'avoir le portage viral le plus important.

En prenant en considération les données vues précédemment et en extrapolant les connaissances sur les modes de transmission de virus pour les autres mammifères, l'espèce la plus à risque aurait son gîte dans un espace clos avec une densité élevée et vivant en colonie très nombreuse. Il s'agirait donc d'une chauve-souris cavernicole. Le partage de ce gîte diurne avec une ou plusieurs autres espèces de chiroptères serait aussi une des caractéristiques de l'écologie de cette espèce type.

L'hibernation entraîne une baisse de l'immunité qui peut favoriser la réactivation des virus en forme latente dans l'organisme mais elle diminue de manière très importante les comportements sociaux et activités des individus et donc les sources

de nouvelles contaminations. Au contraire, les espèces migratrices maintiennent leur activité et ont deux milieux de vie différents, augmentant ainsi leur exposition aux virus. La migration serait un caractère de l'espèce type.

De plus le profil type inclurait une organisation sociale relativement complexe, favorisant les contacts entre un maximum d'individus d'une même colonie. Le partage de nourriture par régurgitation entre individus ayant ou non un lien de parenté serait un exemple des interactions présentes. Les petits de la colonie seraient regroupés en une maternité, favorisant la circulation virale dans cette population sensible, dont la surveillance serait partagée entre plusieurs femelles s'occupant à la fois de ses petits et de ceux des autres chiroptères du groupe.

D'un point de vue des caractéristiques de la reproduction, cette espèce présenterait un polyoestrus, permettant ainsi la présence d'une population sensible sur une plus grande proportion de l'année. De même, les portées seraient constituées de plusieurs petits, favorisant aussi la circulation virale en ayant cette population sensible plus nombreuse et en augmentant l'impact de la transmission virale verticale. Le système d'accouplement basé sur la variabilité des partenaires augmente les risques de transmission par contacts rapprochés et voie vénérienne par rapport à des fonctionnements comme la monogamie.

Concernant le régime alimentaire, la diversité du portage viral serait plus forte chez les espèces hématophages car un partage des proies entre plusieurs individus est fréquent. Les espèces frugivores ont quant à elles un risque de transmission de pathogènes par voie oro-fécale significativement plus important, notamment lorsque certains individus établissent leur gîte dans un des arbres fruitiers exploités comme source de nourriture. Enfin les espèces carnivores sont exposés à plus de virus de mammifère susceptibles de se multiplier dans l'organisme des chiroptères, mais en prenant en compte uniquement la diversité de la partie digestive du virome, la différence avec les insectivores ne semble pas significative.

En tenant compte de toutes ces informations, les familles de chiroptères susceptibles d'abriter la plus grande diversité virale seraient les Vespertilionidae et les Molossidae qui vivent par colonies allant jusqu'à plusieurs millions d'individus dans des lieux clos avec une organisation sociale complexe et notamment les espèces tropicales caractérisées par un polyoestrus. Les Phyllostomidae présentent aussi des caractéristiques proches de l'espèce type : grandes colonies, migratrices, polyoestrus et régime alimentaire varié comprenant l'hématophagie et des espèces frugivores (Annexe 3).

II. Le virome et son étude technique, à l'origine de biais et variation de résultats

II.1. Qu'est-ce qu'un virome et comment l'étudier ?

Le microbiome est le terme utilisé pour définir l'ensemble des génomes de tous les microorganismes vivant sur ou dans l'être vivant considéré ; que ce soit des microorganismes symbiotiques ou pathogéniques (Taneja 2017). Cela regroupe donc les bactéries, archées, virus et mycètes. De là est défini le terme virome, correspondant à la partie du microbiome centrée sur les virus. Chez les mammifères, il comprend les virus des cellules eucaryotes, des archées, des bactériophages qui ciblent les bactéries, ainsi que les éléments génétiques viraux hébergés dans les chromosomes de l'hôte. Parmi ces différents types de virus, le virome concernant les cellules eucaryotes est mieux connu tandis qu'il n'existe que peu de données concernant le virome des archées (Virgin 2014).

Différentes approches sont possibles pour étudier le virome d'un individu. La première consiste à une recherche orientée d'un virus suite à une suspicion. Elle peut cibler des signes directs d'infection ou indirects, comme la présence d'anticorps. La seconde est une analyse dont le but est de mettre en évidence des virus présents sans orienter la recherche et sans émettre d'hypothèse quant à la nature des virus hébergés par l'hôte.

II.1.i. Recherche ciblée

D'un point de vue historique, la première approche utilisée consiste en une recherche ciblée de virus. Ceux-ci sont alors déjà identifiés, ou appartiennent à des familles virales connues. Une méthode de recherche est dite directe, lorsque le virus lui-même est détecté, par le biais de recherche d'antigènes ou par amplification de séquences virales connues à partir d'amorces spécifiques. Historiquement, la détection des virus se faisait par isolement viral. Cela consiste en l'inoculation de cellules spécifiques mises en culture par des échantillons potentiellement infectés. La

technique utilisée de nos jours est la Polymerase Chain Reaction (PCR). La seconde méthode de recherche est dite indirecte. Ce sont les anticorps spécifiques de l'individu qui sont étudiés, via des tests sérologiques.

Ces techniques ont l'avantage d'être rapides, relativement peu onéreuses et réalisables avec du matériel facilement disponible. Cependant elles ne permettent pas de mettre en évidence un grand nombre de virus facilement et ne concernent que les virus ou familles virales connues. Elles ne sont donc pas les plus pertinentes pour l'analyse la plus exhaustive possible d'un virome.

II.1.ii. L'analyse par métagénomique

La seconde approche à laquelle nous allons nous intéresser est dite métagénomique. Ce terme a été utilisé pour la première fois en 1998 et est défini comme l'étude simultanée de l'ensemble des génomes présents dans un prélèvement (Handelsman et al. 1998). Cette technique permet de s'affranchir de la mise en culture de microorganismes en isolant directement les séquences d'acides nucléiques des échantillons étudiés (Edet et al. 2017).

Une analyse métagénomique se réalise en différentes étapes (Figure 14), dont le protocole précis peut varier selon la technique sélectionnée. Après avoir été recueillis, les prélèvements subissent de multiples traitements, permettant d'extraire uniquement les acides nucléiques ciblés, ARN (acide ribonucléique) ou ADN (acide désoxyribonucléique), appartenant aux virus présents initialement dans l'échantillon. Après une étape de fragmentation, une amplification indépendante de la séquence est réalisée. A partir de cela, un séquençage est effectué, permettant d'identifier et caractériser les portions de génome isolées. Un nombre très important de données est alors généré et un traitement informatique est utilisé pour relier les séquences entre elles et pour définir leur genre viral ou le virus auquel elles s'approchent le plus. Des mesures pour le contrôle de la qualité sont appliquées à tous les stades d'avancement de l'étude (Harvey, Holmes 2022).

Le développement de nouvelles techniques de séquençage a permis d'améliorer de manière significative le rendement des analyses métagénomiques ainsi que leur coût. Cela a favorisé la création de nouveaux projets d'étude métagénomique et

surtout leur ampleur. Cependant, un des inconvénients de ces techniques de séquençage nouvelle génération comme le pyroséquençage est le taux d'erreur intrinsèque qui est plus élevé que pour les techniques traditionnelles telles que le séquençage par la méthode Sanger (Simon, Daniel 2011).

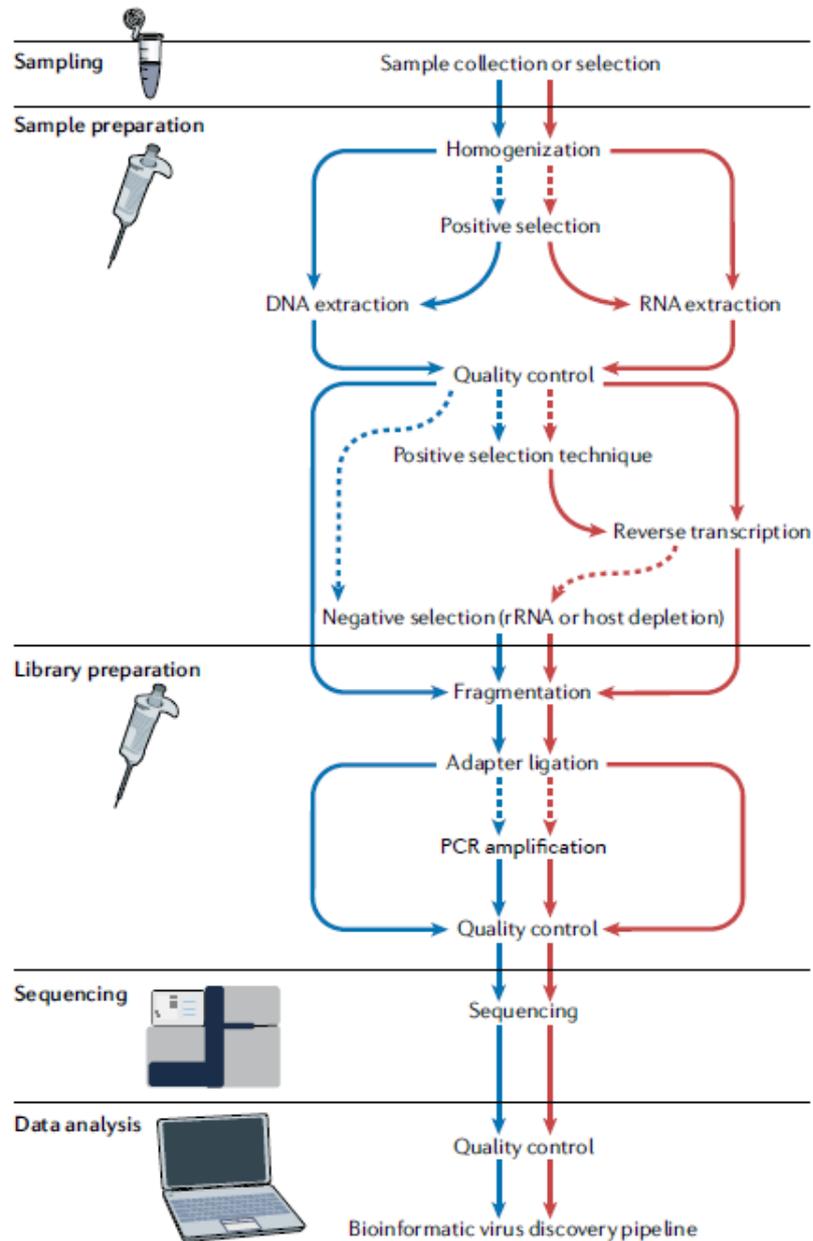


Figure 14. Principe des analyses métagénomiques par séquençage nouvelle génération (Harvey, Holmes 2022)

L'avantage principal de cette approche est qu'elle permet de mettre en évidence des virus sans avoir à suspecter leur présence et sans procéder à une recherche ciblée. Cela permet une analyse objective du matériel génétique viral présent.

Toutefois cela reste des procédures relativement onéreuses, comparées aux recherches ciblées, et nécessitant du matériel spécifique. De plus il existe de nombreuses limites techniques notamment au niveau du traitement informatique des données.

II.1.iii. Comparaison des méthodes d'analyse

Les recommandations les plus fréquemment rencontrées pour les recherches portant sur le virome d'une espèce sont de préférer l'analyse métagénomique aux approches plus classiques comme l'isolement viral ou la recherche ciblée par PCR. Une étude allemande de 2021 s'est intéressée à la comparaison de ces trois méthodes pour l'analyse du virome de 375 chauves-souris, provenant de 16 espèces différentes appartenant toutes aux Vespertilionidés. Les prélèvements analysés sur ces individus étaient issus de plusieurs organes. Les résultats ont montré qu'aucun des virus identifiés par PCR spécifique à une famille virale n'a été mis en évidence par séquençage métagénomique. Inversement, parmi l'ensemble des virus détectés par la métagénomique, aucun n'a été retrouvé par PCR spécifique. Par conséquent, d'après ces données, il est préférable de combiner l'utilisation des trois méthodes que d'en privilégier une seule pour obtenir un aperçu plus complet de la diversité virale. Chacune de ces approches ne permet d'identifier qu'une fraction incomplète du virome présent dans les échantillons (Kohl 2021).

Toutefois, une limite commune à la recherche ciblée par PCR et à la métagénomique est que la définition d'un virus est fondée sur les similarités à un référentiel de virus établi à partir de séquences protéiques. L'existence d'autres types viraux présentant des caractéristiques éloignées de celles des virus déjà identifiés est fortement suspectée.

Le virome d'une espèce est donc complexe à étudier et la comparaison d'un virome entre individus d'une même espèce ou entre plusieurs espèces doit être faite en tenant compte de plusieurs biais possibles, qu'ils soient liés à la partie du virome étudiée et donc aux prélèvements réalisés ou bien le traitement des échantillons et les méthodes d'analyse des données utilisées.

II.2. Biais liés à la partie du virome étudiée

L'étude du virome d'une espèce présente de nombreux enjeux. La réalisation des prélèvements est une étape cruciale dans l'analyse métagénomique car elle conditionne directement la qualité et quantité des données finales obtenues. Dans un premier temps il faut définir précisément la partie du virome considérée dans ce travail. En effet toutes les études ne s'intéressent pas à l'intégralité du virome d'une espèce mais n'en ciblent qu'une partie, ce qui a pour conséquence de modifier les types de prélèvements nécessaires. En cas d'infection virale, les pathogènes se retrouvent généralement au niveau des muqueuses, mais lors d'infections persistantes, ils peuvent aussi résider dans les cellules neuronales, hématopoïétiques, de l'endothélium vasculaire ou même dans les cellules souches (Virgin 2014).

II.2.i. Le virome digestif

La majorité des projets de recherche récents sur les chiroptères se sont attardés sur la population virale retrouvée dans le système digestif (Salmier et al. 2017; Bergner et al. 2020; Donaldson et al. 2010; Wu et al. 2016; 2012; Li et al. 2010; 2021; Mishra et al. 2019; Wang et al. 2015). Pour cela, ce sont principalement de la salive et des matières fécales qui sont prélevées, par l'intermédiaire d'écouvillons oro-pharyngés et rectaux et par récupération de guano au niveau des gîtes (Figures 15 et 16).



Figure 15. Prélèvement de salive avec un écouvillon sur un individu de l'espèce *Myotis daubentonii* (Hammarin et al. 2016).



Figure 16. Différentes étapes du prélèvement de guano. A et B. Bâches en plastique placées sous les lieux de perchage des chauves-souris. C. Récupération du guano sur le plastique. D. Echantillon placé dans un tube de milieu de conservation. (Edwards et al. 2019)

Un des avantages de ce choix d'étude est que les prélèvements sont relativement peu invasifs. Ils sont facilement réalisables sur un grand nombre d'individus. D'un point de vue éthique, ces techniques permettent de relâcher les chauves-souris dans leur milieu à la fin des actes de prélèvement.

Cependant les informations obtenues ne renseignent que sur le contenu viral du tube digestif, or celui-ci est très fortement influencé par les facteurs environnementaux. Une étude a montré que moins de 10% des virus détectés sur guano de chauves-souris sont des virus de mammifères. La majorité des autres virus identifiés est constituée de virus d'invertébrés, pouvant refléter le régime alimentaire des chauves-souris et de virus de plantes, pouvant refléter le régime alimentaire des insectes ingérés par l'individu étudié (Dacheux et al. 2014). Le virome ainsi mis en évidence est à la fois hébergé et excrété par l'individu étudié mais il ne s'y multiplie pas forcément et ne passe pas dans sa globalité la barrière intestinale. Toutefois, des scientifiques ont émis l'hypothèse qu'il pourrait avoir des interactions directes entre le virome digestif, plus particulièrement les bactériophages, et le système immunitaire de l'hôte. Des brèches dans la muqueuse digestive permettraient à des particules de ces bactériophages initialement libres dans la lumière intestinale d'atteindre la lamina propria et ainsi avoir une diffusion systémique (Virgin 2014).

En outre, même au sein des prélèvements de virome digestifs, une différence significative est observable. Les résultats obtenus sur un écouvillon oral ne seront pas identiques à ceux obtenus après prélèvement fécal. En effet, une étude de 2010 s'est intéressée au virome de chauves-souris d'une même colonie via un prélèvement oral et un prélèvement fécal en les classant par tranche d'âge et espèces pour limiter les facteurs de variations autres que le type d'échantillon. Une différence significative du profil du portage viral a été mis en évidence avec notamment pour les femelles juvéniles *Eptesicus fuscus* une prédominance de virus de mammifère sur le prélèvement oral contre une majorité de bactériophages sur écouvillon fécal (Figure 17) (Donaldson et al. 2010). Une analyse métagénomique plus récente sur des chauves-souris de Croatie provenant de sept espèces différentes corrobore ces résultats et a démontré que le type d'échantillon modifie à la fois la composition mais aussi la richesse virale. Cette comparaison a été effectuée à partir de salive, fèces et guano (Šimić et al. 2020).

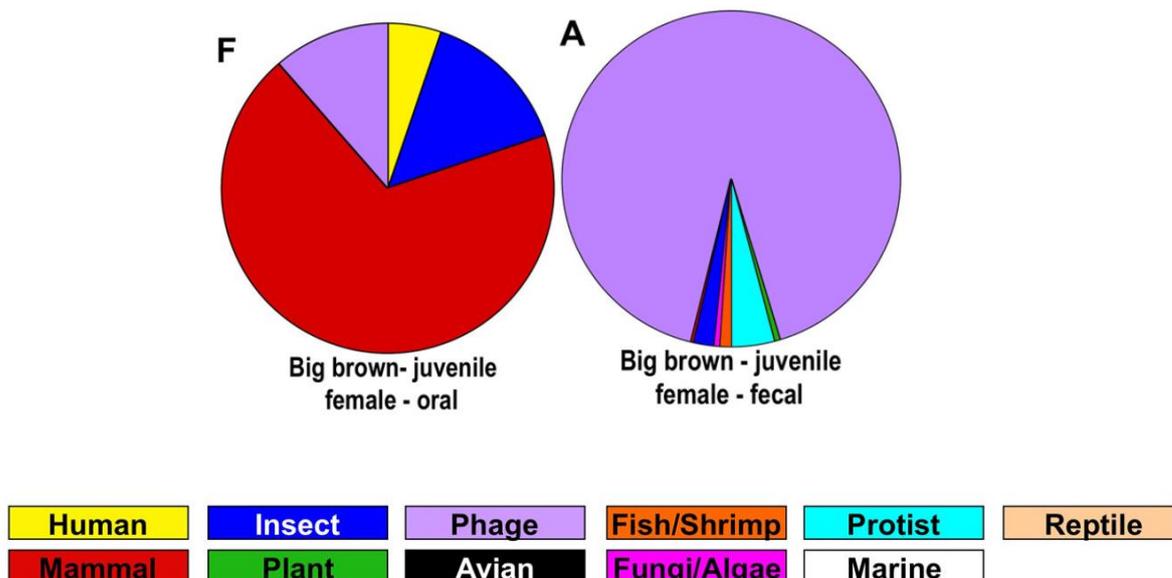


Figure 17. Distribution des séquences virales obtenues par analyse métagénomique sur des femelles juvéniles *Eptesicus fuscus* par prélèvement oral (F) et fécal (A) (Donaldson et al. 2010)

Dans le cadre du virome digestif, la transmission entre individus, à la fois intraspécifique et interspécifique, est alors largement dominée par la voie oro-fécale.

II.2.ii. Le virome systémique

Au contraire, d'autres chercheurs se sont intéressés plus particulièrement au virome des chauves-souris établi à partir d'organes ciblés comme le cerveau, le foie, la rate, les reins, le cœur, les poumons ou les intestins (Dacheux et al. 2014; Maganga et al. 2014; Hermida Lorenzo et al. 2021; He et al. 2013; Hardmeier et al. 2021).

L'intérêt de ce mode de prélèvement est qu'il permet de s'affranchir de l'influence de l'environnement sur la composition du virome. Le profil des virus identifiés est différent : 31% à 50% des virus sont liés aux vertébrés (Dacheux et al. 2014) soit trois à quatre fois supérieur au chiffre lors d'étude sur guano de chauves-souris. Les voies de contamination sont diverses : vénérienne, parentérale par des blessures ou piqûres, verticale, inhalation, voire oro-fécale ou alimentaire s'il y a passage de la barrière digestive. La probabilité d'existence d'une activité de réplication dans l'hôte est alors plus grande.

Cependant la réalisation pratique de ces études nécessite soit de limiter les analyses à des individus retrouvés morts soit d'euthanasier des individus (Figure 18). Dans les deux cas cela a un impact négatif sur la taille de l'échantillon d'individu étudié et le profil des chauves-souris prélevées et donc la représentativité des résultats.



Figure 18. Différentes étapes de l'autopsie de *Pteropus alecto* et prélèvements de tissus pour une étude métagénomique (Irving et al. 2020)

Le type de prélèvement est donc un point important à prendre en compte dans l'analyse des résultats des études de virome, pouvant rendre difficile voire impossible la comparaison des différentes études entre elles. A cela vient s'ajouter le biais d'échantillonnage. Les échantillons doivent être représentatifs de la réalité, il faut donc essayer de prélever une diversité d'individus optimale. De plus, pour permettre d'obtenir des résultats statistiquement représentatifs et donc établir des conclusions, il faut que le nombre de données soit suffisamment important, sans quoi aucune interprétation ne serait possible.

II.3. Traitement des échantillons

Le second objectif, après le prélèvement, est le traitement des échantillons permettant de passer de fèces, salive ou organes à de simples acides nucléiques viraux.

II.3.i. Extraction des acides nucléiques viraux

Il n'existe pas de protocole standardisé, chaque équipe définit un procédé propre à leur projet. Toutefois, la très grande majorité de ces procédés repose sur le même principe. Tout d'abord, il est nécessaire d'homogénéiser le tube pour mettre tous les éléments en suspension. Ensuite, les débris, les cellules eucaryotes et cellules procaryotes sont éliminés par des filtrations successives, précédées dans certains cas d'une centrifugation à faible vitesse (Victoria et al. 2009). Une fois que l'échantillon est purifié, l'objectif est d'agglomérer les particules virales. La méthode la plus fréquemment utilisée est alors l'ultracentrifugation, qui montre des résultats très satisfaisants pour les virus d'eucaryotes et les bactériophages (Figure 19) (McNamara, Dittmer 2020). Les particules virales sont alors récupérées et remis en suspension dans une eau non contaminée en nucléase. L'étape suivante consiste en une digestion enzymatique du contenu par un mélange de DNases (désoxyribonucléases). Seuls les acides nucléiques non enveloppés sont alors détruits, les particules virales entourées d'une capsid virale sont conservées.

Enfin l'étape clé du traitement des échantillons est l'extraction des acides nucléiques présents dans les échantillons. Les objectifs sont alors d'obtenir un produit représentatif, dans des quantités suffisantes et de qualité optimale pour être étudié. Il existe des protocoles spécifiques différents selon chaque type d'échantillon (Thomas, Gilbert, Meyer 2012).

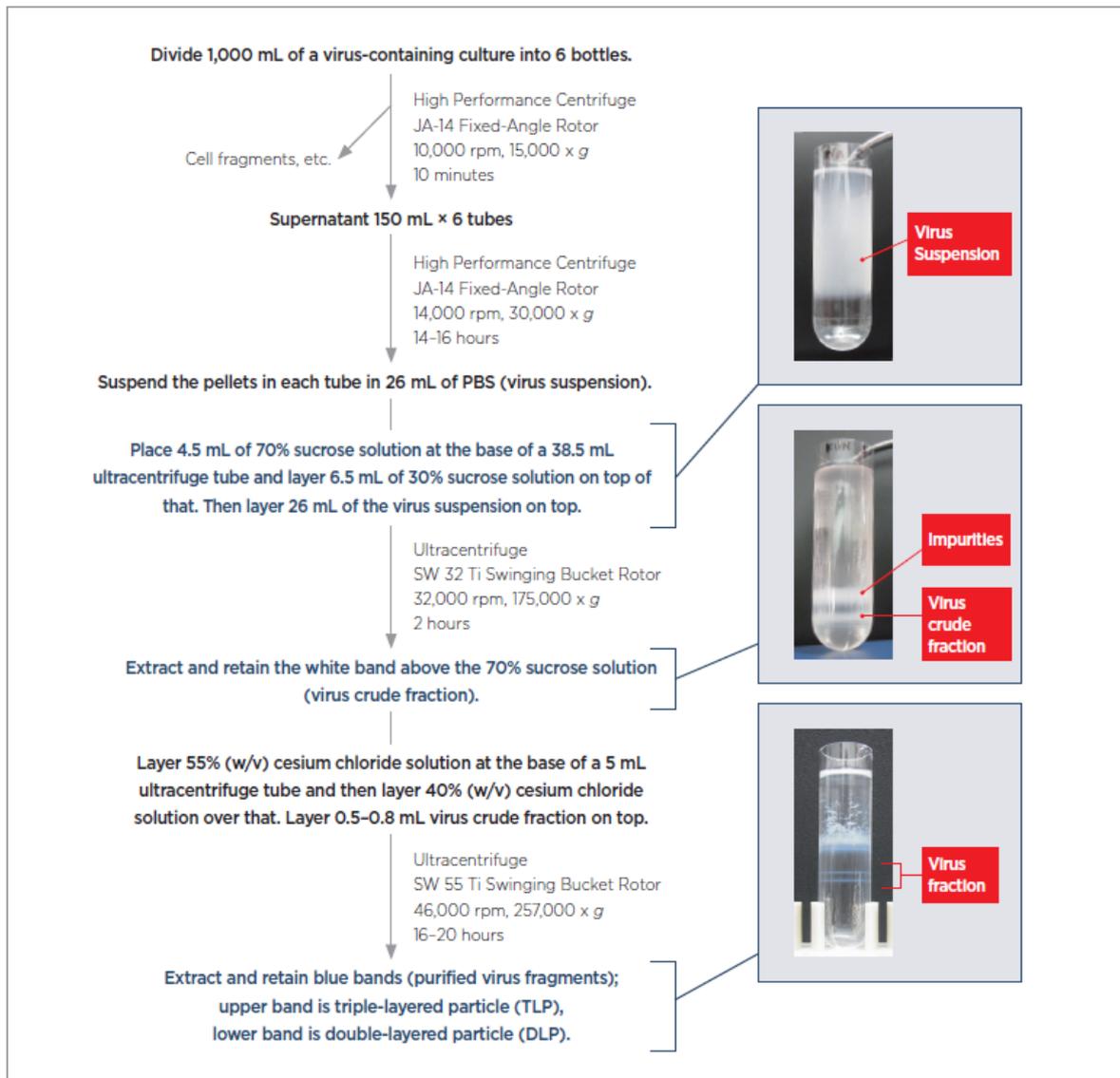


Figure 19. Exemple de protocole de purification par ultracentrifugation adaptée à un rotavirus (Nakagomi 2013)

Plusieurs projets de recherche ont suggéré qu'il n'existe pas de protocole ayant une efficacité identique pour tous les prélèvements (National Research Council 2007). Ainsi, en plus de la variabilité liée au type de prélèvement, il y aurait un biais technologique associé lors de la comparaison entre deux études concernant une sous-catégorie de virome différente malgré un protocole d'extraction identique. La comparaison entre deux études ne portant pas sur le même type de prélèvement semble donc peu pertinente, la part de variabilité liée aux différents biais n'étant pas évaluable.

Au contraire, sur un même type de prélèvement les efficacités des différents protocoles d'extraction semblent assez proches pour permettre une comparaison en s'affranchissant d'un biais technique supplémentaire. En effet, une étude comparant l'efficacité de six kits d'extraction d'acides nucléiques pour l'analyse de microbiome humain sur plusieurs types d'échantillons a montré que les résultats obtenus sont comparables (Shaffer et al. 2022). Des résultats similaires ont été obtenus par une équipe de chercheurs ayant comparé l'efficacité de quatre kits d'extraction (QIAamp Viral RNA Mini Kit, QIAamp Blood Mini Kit, QIAamp cadon Pathogen Mini Kit et QIAamp MinElute Virus Spin Kit). Ce projet s'est porté sur l'extraction des acides nucléiques viraux uniquement. Il a permis de montrer que la quantité de données obtenues par séquençage nouvelle génération est très peu variable selon les kits utilisés (Klenner et al. 2017). A partir de ces résultats, il paraît cohérent de supposer que le biais technologique est négligeable lors de la comparaison d'études de virome sur un même type de prélèvement.

II.3.ii. Séquençage des prélèvements

Une fois l'extraction des acides nucléiques du prélèvement réalisée, il est nécessaire de procéder au séquençage. Plusieurs technologies sont à disposition des équipes de recherche. Parmi ces dernières, la méthode de Sanger est considérée comme le Gold Standard car elle possède un taux d'erreur très faible. Cependant elle permet l'analyse d'un seul échantillon à la fois, nécessite une grande quantité d'acide nucléique initiale et donc une amplification préalable et son coût par gigabase est plus élevé que la majorité des autres techniques. Cela a favorisé le développement de méthodes de séquençage nouvelle génération qui sont dorénavant les plus populaires notamment en métagénomique. Parmi elles, les technologies Illumina (Solexa®) et 454 (Roche®) sont les plus utilisées avec une très large dominance de la première (Edet et al. 2017). Ainsi pour la majorité des études métagénomiques il est produit des « reads » d'une longueur d'environ 100-250 paires de bases. Au total ce sont jusqu'à plusieurs milliards de « reads » qui sont générées à partir d'un seul échantillon (Breitwieser, Lu, Salzberg 2019).

Toutes les technologies ne présentent pas les mêmes performances, leur choix impacte donc le résultat final des études. Les deux méthodes les plus utilisées fonctionnent avec des quantités très petites d'acides nucléiques, seulement quelques nanogrammes. La technologie Illumina® possède un taux d'erreur important en queue de séquence des « reads » et la longueur de ces derniers est réduite (une centaine de paires de bases). De son côté, la technologie 454® a le défaut de produire des répliques artificiels faussant l'exploitation quantitative des données.

Ainsi, pour s'affranchir au maximum de ces biais possibles dans l'analyse du viromes des chiroptères, il serait pertinent d'établir un protocole standardisé pour tous les projets.

II.4. Traitement des séquences générées

L'analyse des séquences, obtenues par traitement des échantillons, extraction des acides nucléiques et séquençage, se fait en plusieurs étapes. La première consiste à évaluer la qualité du séquençage et ainsi éliminer les séquences de mauvaise qualité, artéfactuelles, trop petites ou qui gêneraient l'interprétation des données.

La seconde étape est l'assemblage d'un maximum de ces suites de paires de bases pour essayer de reconstituer un génome complet ou une partie de génome si ce n'est pas possible. Les séquences ainsi obtenues sont appelées « contigs ».

La dernière étape est caractérisée par la comparaison de ces « contigs » obtenus avec les banques de données pour déterminer l'espèce virale identifiée, sa famille ou à minima la famille dont il semble le plus proche (Figure 20). Les étapes de l'analyse sont ici placées dans l'ordre le plus fréquemment utilisé mais dans certains projets cet ordre peut être modifié.

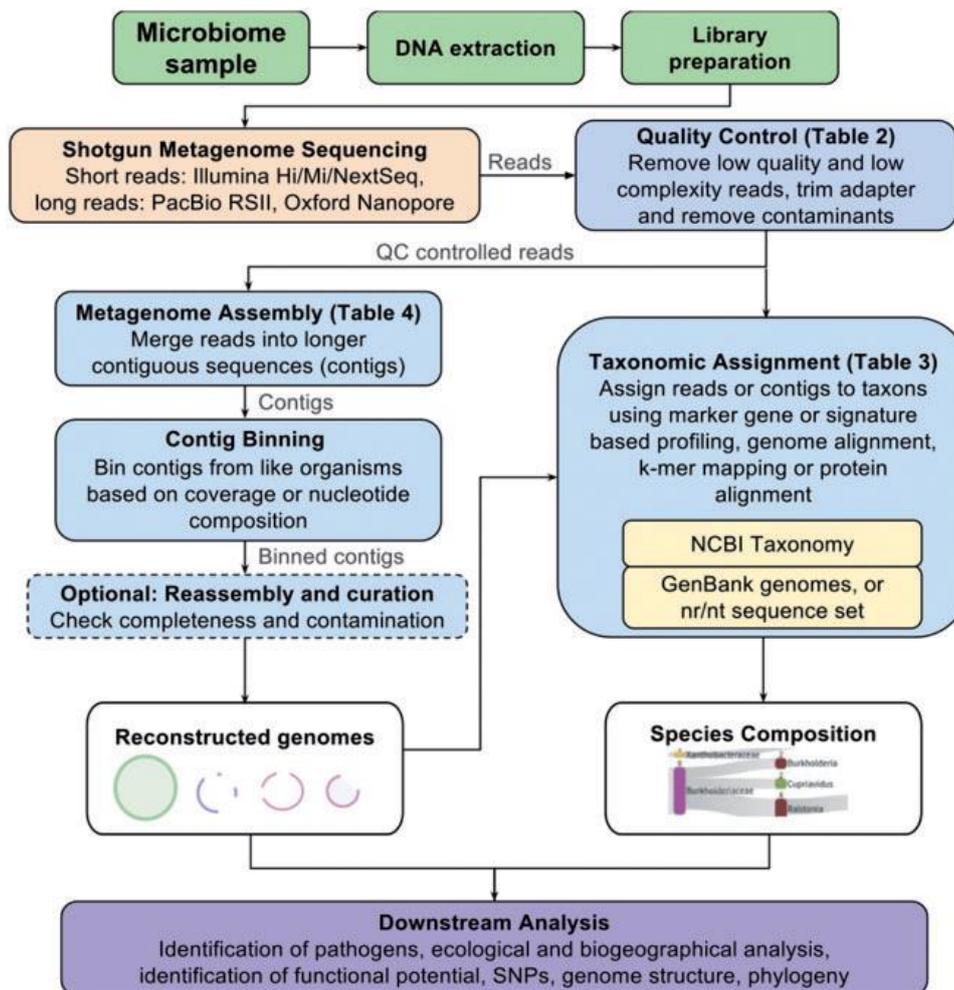


Figure 20. Protocole d'analyse métagénomique communément utilisé (Breitwieser, Lu, Salzberg 2019)

II.4.i. Contrôle de qualité et filtrage des séquences générées

Les données brutes obtenues après l'étape de séquençage nécessitent un traitement avant de pouvoir les analyser. En effet la qualité des « reads » est dépendante de la technologie utilisée, comme détaillé précédemment. Un rognage et un filtrage des « reads » sont donc effectués afin de réduire les erreurs lors de l'étape suivante qui est l'assemblage.

Ce sont essentiellement les bases des extrémités des « reads » qui sont de moindre qualité. Il s'agit donc du site principal de rognage des séquences d'acides nucléiques. Lors de cette étape, les éventuelles amorces de PCR restantes sont aussi éliminées, tout comme les séquences nucléotidiques utilisées pour le pontage de deux fragments terminés par des séquences non complémentaires (Zhang 2018).

Le filtrage est effectué, avec pour objectif de retirer les séquences trop petites, contaminantes et artéfactuelles. Pour cela certains projets réalisent un alignement avec des génomes connus comme le génome humain pour identifier puis retirer les portions dues à des contaminations notamment lors de la préparation de l'échantillon (Hardmeier et al. 2021). Ensuite, un seuil de taille est défini et tout « read » ayant un nombre de paires de bases inférieur à cette limite est rejeté.

L'enjeu de ce traitement des données brutes de séquençage est de réduire les erreurs lors de l'étape suivante qui est l'assemblage. Cependant il est important de bien prendre en considération les paramètres utilisés lors du rognage et du filtrage car un mauvais choix peut induire l'élimination de contenu utile.

II.4.ii. L'assemblage

Après le séquençage et l'amélioration de la qualité des données générées, la première grande étape d'une étude métagénomique est l'assemblage. Cela consiste à la fusion de séquence d'acides nucléiques pour reformer les « contigs » les plus longs et les plus proches possible de la séquence originale. Cela repose sur une considération aussi simple qu'essentielle : des fragments de matériel génétique très fortement semblables proviennent du même endroit dans le génome d'origine. Cependant cette affirmation présente des limites car il existe des séquences redondantes dans un même génome, ce qui complexifie l'étape d'assemblage (Nagarajan, Pop 2013).

L'assemblage génomique est exposé à plusieurs difficultés spécifiques à la métagénomique. Par définition, dans ces études un échantillon comporte des éléments appartenant à plusieurs génomes, ce qui implique la possibilité d'une inégalité d'intensité de séquençage entre les différents organismes du prélèvement. La faible différence de variations entre deux répliques et deux souches différentes constitue un deuxième problème dans l'analyse métagénomique. Enfin, la métagénomique ne permet pas d'obtenir une bonne couverture de toutes les espèces présentes initialement. Elle est généralement restreinte au génome d'une ou deux espèces seulement (Breitwieser, Lu, Salzberg 2019).

Aujourd'hui l'absence de méthode d'assemblage de référence rend l'évaluation de l'efficacité des programmes particulièrement complexe (Thomas, Gilbert, Meyer 2012).

Les technologies d'assemblage se regroupent en deux grandes catégories : l'assemblage *de novo* qui met en jeu une reconstitution du génome uniquement à partir des données obtenues par séquençage et l'assemblage comparatif qui se fonde en plus sur les génomes d'organismes proches génétiquement ayant déjà été entièrement séquencés. Les trois méthodes les plus utilisées par les programmes d'assemblage sont les assemblages *de novo* « greedy », « overlap-layout-consensus » et « de Bruijn graph ».

La méthode « greedy » est la plus intuitive, les « reads » sont fusionnés de manière itérative en commençant par les « reads » ayant les meilleurs chevauchements, jusqu'à impossibilité de formation de nouveaux « contigs ». Cependant les inconvénients sont nombreux avec notamment uniquement une approche locale entraînant des erreurs d'assemblage surtout dans les séquences redondantes. Cette approche est à privilégier lorsque le nombre de séquences répétées est réduit.

La méthode « overlap-layout-consensus » est une approche en trois étapes : la construction d'un graphique de chevauchement prenant en considération l'ensemble des « reads », puis la simplification de ce graphique et la dernière étape consiste à former de multiples alignements de « reads » et définir le plus susceptible d'être semblable au génome initial. Elle est principalement utilisée pour les « reads » longs avec un haut taux d'erreur mais son efficacité diminue lorsque la couverture est importante.

La méthode « de Bruijn graph » fonctionne à partir de portions de « reads » de longueur k appelée k -mers à partir desquelles un graphe de Bruijn est construit en prenant en compte leur occurrence parmi les « reads ». Ensuite le graphe est simplifié en retirant les artéfacts et les « contigs » sont établis. En outre, cette approche est impactée par les erreurs de séquençage. Il est donc indispensable d'éliminer les « reads » erronés. Son utilisation est de plus en plus fréquente avec le développement de technologies de séquençage avec un faible taux d'erreur (Figure 21).

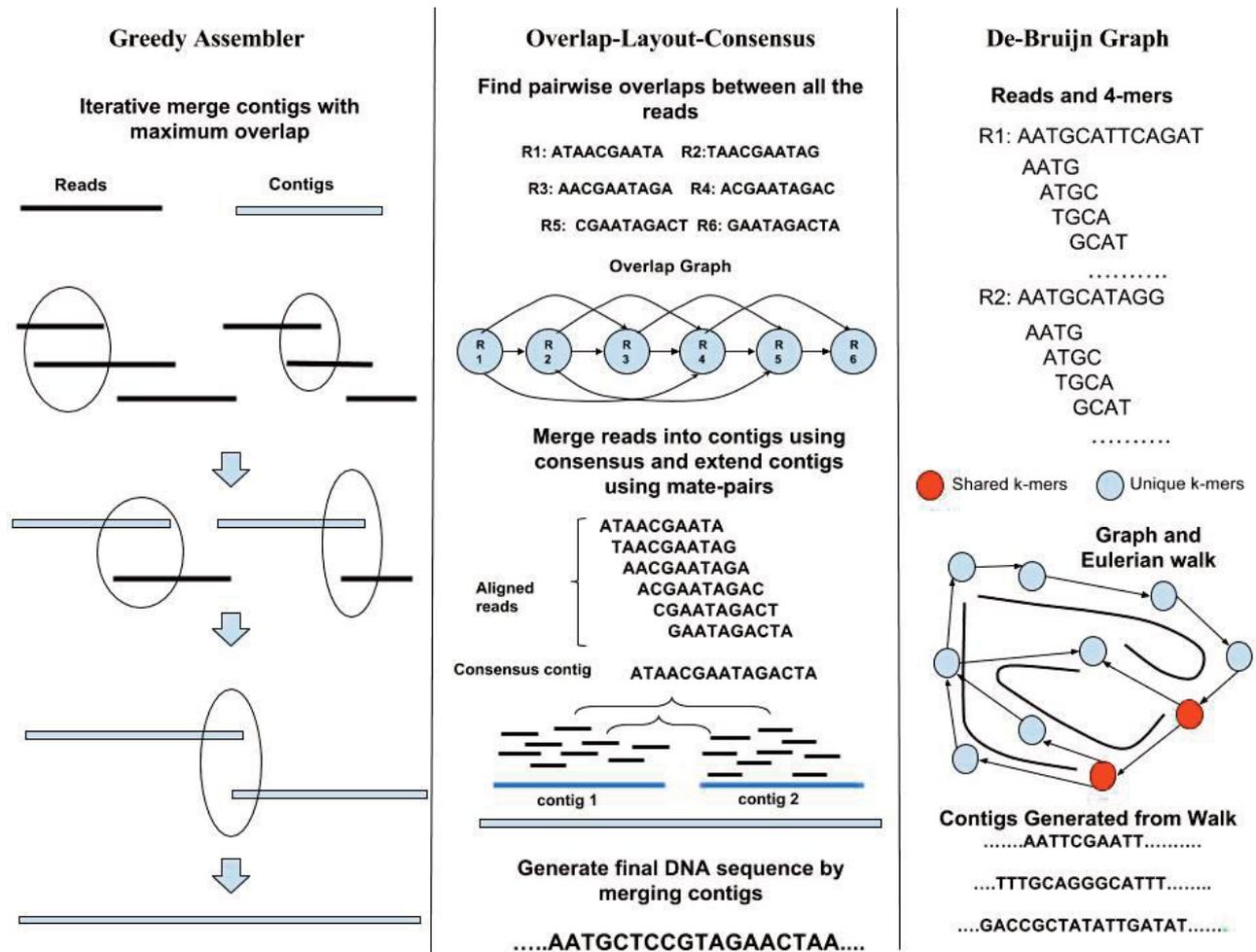


Figure 21. Description du principe de fonctionnement des méthodes d'assemblage de novo (Ghurye, Cepeda-Espinoza, Pop 2016)

Les méthodes d'assemblage comparatif sont les plus efficaces dans le cadre d'études portant sur des organismes proches déjà séquencés. Pour les projets étudiant le portage viral des chiroptères, les espèces identifiées sont fréquemment éloignées de celles déjà rapportées, ce qui rend cette approche moins pertinente (Ghurye, Cepeda-Espinoza, Pop 2016).

II.4.iii. Classification et identification des séquences

L'assemblage permet d'obtenir des séquences plus longues que les données brutes issues du séquençage. L'étape suivante qui consiste à classer et identifier les « contigs » est ainsi simplifiée. En effet, plus la séquence est grande, plus la quantité d'informations essentielles à la comparaison avec les bases de données génétiques déjà existantes est importante. De plus la qualité d'information est améliorée par le regroupement des « reads », rendant plus pertinente la comparaison avec les séquences connues (Thomas, Gilbert, Meyer 2012).

Dans un premier temps, une classification des « reads » et « contigs » est réalisée. Les séquences sont réunies en groupes pouvant représenter un génome unique ou des génomes étroitement liés. Les algorithmes consacrés à cette tâche utilisent deux types d'informations. La première est fondée sur la composition : les génomes ont une composition en nucléotides conservée qui se retrouve à l'échelle des fragments de séquences. Cette méthode n'est pas appropriée lorsque les fragments sont de petite taille et nécessite donc un assemblage préalable. La seconde est fondée sur la similarité : le fragment peut coder pour un gène dont la similitude avec un gène répertorié dans les bases de données permet de classer la séquence. Certains programmes fonctionnent avec un seul de ces principes tandis que d'autres reposent sur les deux, comme MetaCluster® et PhymmBL® (Thomas, Gilbert, Meyer 2012).

Dans un second temps, les fragments de séquence sont annotés. Pour les études métagénomiques, deux étapes sont généralement nécessaires : l'identification des traits d'intérêt et l'assignement de la fonction des gènes ainsi que des liens taxonomiques. Lors de cette première étape, les séquences sont caractérisées comme partie codante ou non codante du génome à l'aide de programmes informatiques dont les performances sont remarquables avec un faible taux de faux négatif mais une capacité limitée à détecter l'ensemble des gènes (seulement 70% de taux de vrai positif pour FragGeneScan®). L'annotation fonctionnelle constitue la seconde étape. Initialement, la classification des séquences

obtenues par une étude métagénomique était réalisée par alignement avec la méthode BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). Le principe est de comparer tous les « reads » avec l'ensemble des séquences répertoriées dans la base de données GenBank. Toutes les séquences ne peuvent pas être annotées de cette manière : certaines séquences peuvent être erronées, d'autres peuvent coder pour des fonctions inconnues et enfin des portions peuvent ne posséder aucune homologie avec des gènes connus. Cependant, cette base de données a augmenté considérablement ne permettant plus la comparaison à toutes les séquences connues (Breitwieser, Lu, Salzberg 2019). Par conséquent de nouvelles approches ont été établies permettant l'analyse d'un très grand nombre de séquences rapidement, mais leur sensibilité est inférieure à BLAST.

Ye et al. se sont intéressés à la comparaison des performances de ces techniques. Elle a été réalisée sur la base de la précision, c'est-à-dire la proportion d'espèces identifiées vraies positives divisée par le nombre total d'espèces identifiées, et du rappel (« recall »), qui est la proportion d'espèces identifiées vraies positives divisée par le nombre d'espèces réellement présentes dans le prélèvement. La correspondance entre l'abondance de chaque espèce identifiée et l'abondance réelle est aussi un facteur d'évaluation. Le choix de la technique utilisée peut aussi être influencé par la vitesse de classification, la quantité de mémoire nécessaire et le format d'édition. Parmi les programmes de classification de séquences d'ADN, Kraken® et les outils dérivés Bracken®, Kraken Uniq® et Kraken2® sont ceux présentant les meilleurs résultats. Cependant ils nécessitent une quantité de mémoire très importante, ce qui n'est pas le cas de l'approche par MetaPhlan2® qui est un bon compromis si les ressources informatiques sont limitées. Concernant les programmes traitant les séquences protéiques, Kaiju®, DIAMOND® et MMseqs2® sont les plus performants avec un avantage pour la première technique qui est plus rapide et nécessitant moins de mémoire (Ye et al. 2019).

De même le choix de la base de données de référence est un facteur influençant la qualité des résultats. En effet certaines bases de données sont plus complètes que d'autres et les critères de qualité des séquences répertoriées ne sont pas identiques pour toutes. Ainsi RefSeq, BLASTnt et BLASTnr sont décrites comme les plus complètes et de haute qualité et donc les plus utilisées et Genbank possède

une grande quantité de génome mais les contrôles de qualité sont moins importants (Ye et al. 2019). Pour limiter les annotations erronées, cette dernière librairie est à éviter.

Les études métagénomiques sont des procédures complexes, avec un nombre d'étapes important mettant en jeu des technologies variées. Pour cela, de nombreux outils sont à la disposition des équipes de recherche, tant pour la partie d'extraction des acides nucléiques que pour le séquençage et ensuite l'analyse des données. Chacun de ces outils présente une efficacité différente avec des avantages et inconvénients orientant le choix de ceux qui seront utilisés dans le projet. Cependant, une conséquence est le fait que la comparaison de deux études métagénomiques en est rendue plus complexe. En plus de devoir tenir compte de la population étudiée et du type de prélèvement, il est important de considérer les biais technologiques et différences de performance dans l'interprétation des résultats.

III. Richesse virale des chiroptères et ses facteurs prédisposants

L'ordre des Chiroptères a été identifié comme acteur essentiel dans l'émergence de la plupart des maladies infectieuses virales chez l'Homme grâce des études épidémiologiques et phylogénétiques. Cette association entre chauves-souris et zoonoses a été décrite pour la première fois avec la découverte du virus de la rage chez des chauves-souris il y a plus d'une centaine d'années (Carini 1911). De même, il a été observé comme hôte de nombreux virus potentiellement zoonotiques pouvant ainsi être à l'origine de l'émergence d'une nouvelle maladie virale humaine. Par conséquent, l'intérêt porté par la communauté scientifique sur le virome des chauves-souris est de plus en plus important. C'est dans ce contexte qu'a été créé « The Global Virome Project » en 2018 (Carroll et al. 2018). Il s'agit d'un projet d'étude des viromes des animaux pour détecter les virus potentiellement zoonotiques et évaluer le risque qu'ils soient à terme à l'origine d'une crise mondiale. L'objectif est d'ainsi pouvoir mettre en place les mesures nécessaires plus rapidement en cas d'épidémie, d'être capable de diagnostiquer efficacement dès le début de la diffusion de la maladie et surtout réduire l'impact économique. La pandémie mondiale due au SARS-CoV-2 commençant en 2019 a renforcé cette dynamique. Les données concernant le virome des chauves-souris sont donc de plus en plus nombreuses. Cela a mis en évidence un portage virale d'une grande diversité mais aussi une variabilité importante des virus identifiés chez les chiroptères tant d'un point de vue quantitatif que de la nature de ces micro-organismes. Il se pose alors la question de l'origine de cette variabilité. Des études comparatives ont été réalisées pour essayer de définir des facteurs prédisposants.

III.1. Diversité du portage viral

Les chiroptères sont un réservoir considérable de virus. Leurs caractéristiques écologiques, immunologiques et comportementales les distinguent de tout autre ordre de mammifères et même du règne animal. En effet, les chauves-souris ont une espérance de vie relativement longue par rapport à leur taille, ce qui rend possible les infections chroniques et donc potentiellement les rend susceptibles d'être des hôtes de virus au long terme. De même, la mise en latence des virus lors d'infection est favorisée par la capacité d'hibernation pour les espèces vivant en milieu tempéré. En outre, les chiroptères sont les seuls mammifères étant capable de vol actif, ce qui a pour conséquence la possibilité de dispersion sur des très longues distances mais aussi implique la présence de mécanismes de réponse aux dommages sur l'ADN favorisés par le vol, qui semblent permettre en parallèle la lutte contre les infections virales (Zhang et al. 2013). Toutes ces caractéristiques associées à leur comportement grégaire pour une majorité des espèces et leur réponse immunitaire innée spécifique, permettent un portage viral important et varié.

Des virus de toutes les catégories de la classification de Baltimore ont été mis en évidence chez des chiroptères. Tous les types d'acides nucléiques, support de l'information génétique, et tous les modes de réplifications sont représentés. Cela inclut des virus à ADN bicaténaire (groupe I selon la classification de Baltimore), des virus à ADN monocaténaire (groupe II), des virus à ARN bicaténaire (groupe III), des virus à ARN monocaténaire à polarité positive (groupe IV), des virus à ARN monocaténaire à polarité négative (groupe V), des virus à ARN monocaténaire à rétrotranscription (groupe VI) et des virus à ADN bicaténaire à rétrotranscription (groupe VII) (Annexe 4) (Hayman 2016).

Les études comparatives ont démontré notamment que l'ordre des Chiroptères abrite plus de virus zoonotiques par espèce que les rongeurs. Malgré le fait qu'il y ait environ deux fois plus d'espèces décrites de rongeurs que de chauves-souris, le nombre total de virus zoonotiques identifié dans chacun des deux ordres est relativement proche : 68 pour l'ordre Rodentia et 61 pour l'ordre Chiroptera. De

même les virus, qu'ils soient zoonotiques ou non, ont un spectre d'hôtes plus large chez les chauves-souris que les rongeurs, favorisant un portage viral important (Tableau 1) (Luis et al. 2013).

Tableau 1. Résumé sur les virus zoonotiques et non zoonotiques identifiés chez les rongeurs et les chiroptères (Zhang et al. 2013)

order	mean no. hosts/virus	total viruses		zoonotic viruses	
		no.	mean/host (range)	no.	mean/host (range)
bats	4.51	137	2.71 (1,15)	61	1.79 (0,12)
rodents	2.76	179	2.48 (1,20)	68	1.48 (0,11)

Parmi les familles de virus retrouvées lors des études de l'ensemble des viromes des chiroptères, une partie infecte les vertébrés, dont les mammifères, une autre partie les plantes, certains ciblent les insectes et enfin d'autres font partie des phages, c'est-à-dire qu'ils n'infectent que les bactéries. Il est difficile de définir un profil type de richesse en fonction de la cible des virus. Il est extrêmement variable et semble être dépendant notamment du type de prélèvement, mais aussi de l'espèce et de l'âge des individus prélevés (Donaldson et al. 2010).

Toutefois la plupart des études métagénomiques sur le virome digestif des chiroptères semblent montrer que les séquences obtenues sont majoritairement classées comme des virus d'insectes, de mammifères et bactériophages (Wu et al. 2012). Ces derniers sont fréquemment identifiés comme majoritaires lors de projets métagénomiques chez d'autres mammifères. Ils représentent 73% des séquences ayant été identifiées chez des chevaux (Cann, Fandrich, Heaphy 2005), et environ 16% chez des enfants d'Asie du Sud (Victoria et al. 2009) mais la proportion semble comparativement plus faible chez les chiroptères avec des études montrant une proportion pouvant descendre jusqu'à 4% de phages (Li et al. 2010), même si d'autres travaux présentent des résultats pouvant être supérieurs.

Cependant les populations de chiroptères dont le virome est étudié n'ont pas une répartition géographique égale. Par conséquent les données actuelles ne sont pas

exhaustives et donc probablement non représentatives de l'ensemble des espèces de chiroptères. Toutefois, le développement de la métagénomique a permis de réduire le biais lié à la surreprésentation de certaines familles virales due aux recherches ciblées (Hayman 2016).

III.2. Variations liées aux caractéristiques propres à l'espèce

En plus des particularités générales des chauves-souris favorisant le portage viral, de nombreux facteurs sont suspectés comme étant prédisposants à une plus grande richesse virale chez certains chiroptères. Ils peuvent être classés en deux grandes catégories selon leur nature : les caractéristiques propres à l'espèce étudiée, qui permettent d'expliquer une partie des différences de composition de virome entre deux espèces vivant au même endroit, et les caractéristiques à l'origine des différences au sein d'une même espèce, essentiellement liées à l'environnement.

Les caractéristiques propres à chaque espèce sont les facteurs de variation de la diversité virale les plus nombreux et les plus fréquemment étudiés. En effet, toutes les recherches ayant été menées sur des espèces différentes ont à minima suspecté une différence dans la composition du virome entre ces espèces (Salmier et al. 2017; Dacheux et al. 2014; Donaldson et al. 2010; Wu et al. 2016; Prada et al. 2019; Maganga et al. 2014; Luis et al. 2013; Gay et al. 2014; Hu et al. 2017; He et al. 2013; Mishra et al. 2019; Hardmeier et al. 2021; Bolatti et al. 2022; Turmelle, Olival 2009; Van Brussel, Holmes 2022).

Il est possible d'observer cette variabilité à l'échelle des familles de chiroptères. L'étude de Van Brussel et Holmes a permis de mettre cela en évidence en reprenant les séquences virales associées à leur famille de chauves-souris hôte disponibles sur le NCBI (National Center for Biotechnology Information). Les profils viraux ainsi obtenus, tant en termes de virus à ARN que virus à ADN, sont remarquablement différents et certaines familles comme les Vespertilionidae, Rhinolophidae,

Pteropodidae, Phyllostomidae et Hipposideridae présentent une richesse virale plus importante que les autres familles (Figure 22) (Van Brussel, Holmes 2022).

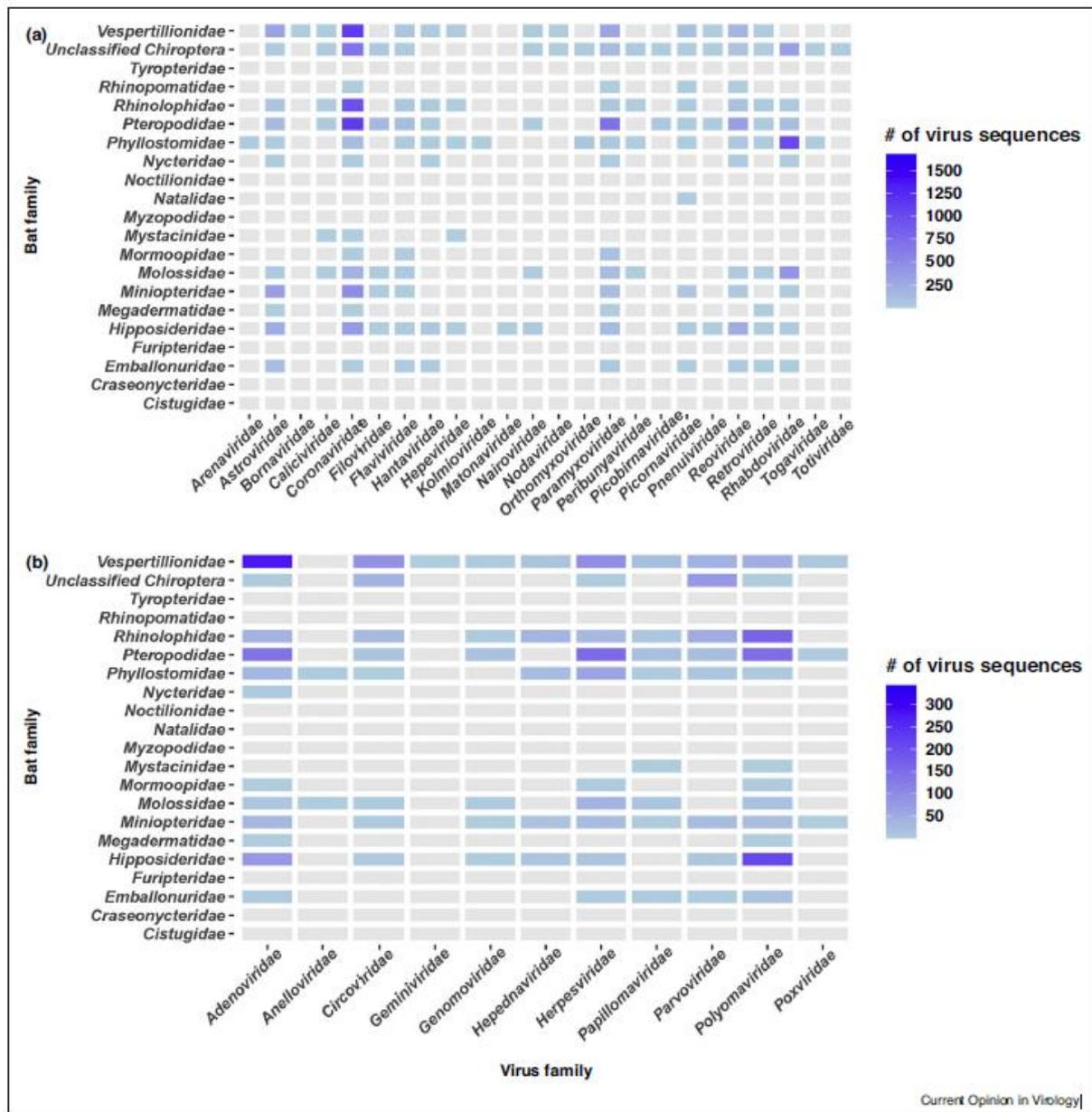


Figure 22. Nombre de séquences virales séparées par familles de virus associé à la famille de chiroptère hôte correspondante selon la base de données NCBI. (a) familles virales à ARN et (b) familles virales à ADN (Van Brussel, Holmes 2022)

Cela a pu être confirmé à l'échelle de l'espèce de chiroptères par des études ayant pour but de s'affranchir des autres paramètres en comparant le portage viral d'espèces vivant dans le même environnement. En effet, Donaldson et al. ont réalisé

une étude métagénomique sur 41 individus de trois espèces de chauves-souris d'Amérique du Nord vivant dans un même tunnel ferroviaire abandonné. En regroupant les prélèvements par pools selon l'espèce ainsi que l'âge et le type de prélèvement, une différence de portage virale inter-espèce a été mise en évidence pour une même classe d'âge et un type de prélèvement identique. La composition virale des *Perimyotis subflavus* mâles juvéniles est différente des mâles juvéniles *Eptesicus fuscus* avec respectivement une majorité de virus d'insectes et une forte présence de virus de plantes (figure 23) (Donaldson et al. 2010).

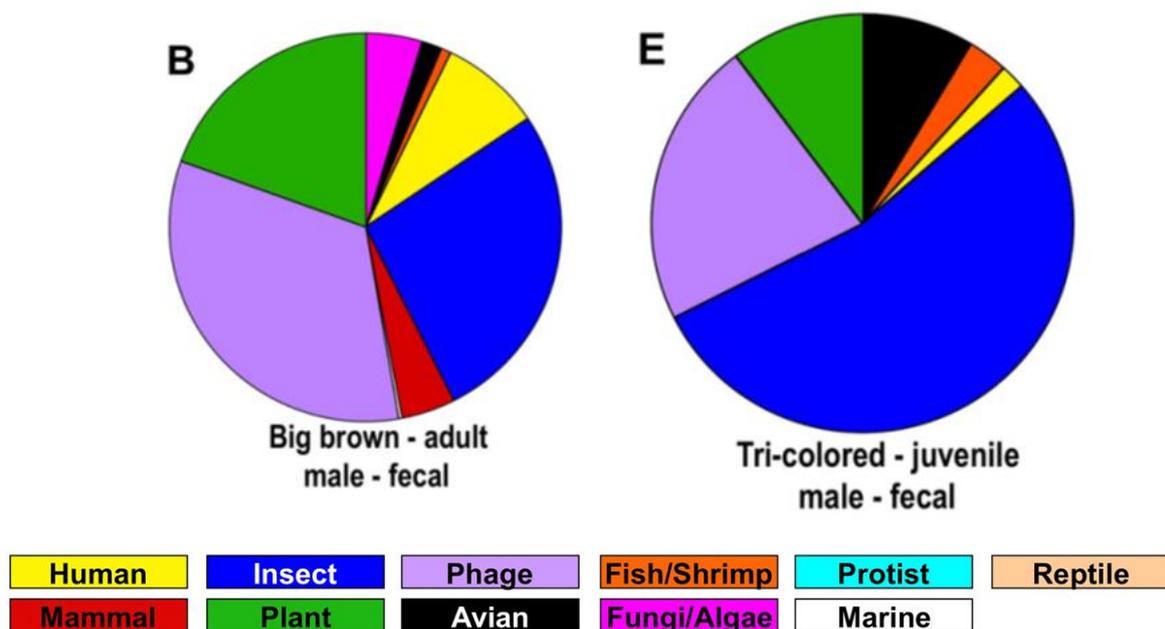


Figure 23. Distribution des séquences virales obtenues par analyse métagénomique sur des mâles juvéniles *Eptesicus fuscus* (B) et *Peimyotis subflavus* (E) par prélèvement fécal (Donaldson et al. 2010)

III.2.i. Influence de la taille de l'espèce

Parmi les facteurs pouvant expliquer ces différences entre espèces, le poids moyen et donc la taille de l'espèce à l'âge adulte sont évoqués dans de multiples travaux. L'hypothèse alors formulée est que plus le poids moyen serait élevé, plus la richesse virale serait grande. L'analyse par régression multiple standard de données mixtes expérimentales et bibliographiques sur quinze espèces de chauves-souris

d'Afrique Centrale et de l'Ouest a établi un modèle préférentiel concernant la richesse virale. Cette dernière comprend quatre variables dont la taille moyenne de l'espèce. D'après ces résultats, ce paramètre aurait une influence positive sur la richesse du portage viral chez les chiroptères (Maganga et al. 2014).

III.2.ii. Influence de l'espérance de vie

L'espérance de vie semble être un autre facteur modifiant la diversité du portage viral. Une hypothèse serait que les animaux ayant une courte espérance de vie développent une réponse immunitaire innée plutôt qu'une réponse acquise, ce qui les prédisposerait à être de meilleurs réservoirs de microorganismes. Cependant une étude bibliographique de 2012 s'est intéressée aux virus identifiés chez les chiroptères présents sur la base de données Web Of Science afin de définir les paramètres influençant la richesse virale par la méthode des moindres carrés généralisés. L'espérance de vie fait partie des trois principaux paramètres qui sont à l'origine de 88% de la variance de la richesse virale et présente une corrélation positive avec elle. Cela peut être expliqué par la possibilité du développement d'interactions virus-hôte et infections chroniques qui sont favorisées sur les animaux vivant plus longtemps (Luis et al. 2013).

III.2.iii. Influence du nombre de portée par an

Afin d'évaluer la persistance virale dans une colonie, un modèle prend en compte la taille de la population, le temps d'incubation viral et surtout le nombre de période de reproduction par an. En 2015, D. Hayman s'est intéressé au cas particulier des filovirus chez *Rousettus aegyptiacus* pour définir les paramètres essentiels à la persistance de ces virus dans le cadre d'une colonie isolée. Une reproduction annuelle avec une synchronisation stricte dans des colonies de taille habituelle ne permet pas le portage viral persistant de filovirus chez cette espèce de chauves-souris. La période d'incubation et la taille des populations présentes dans la nature impliquent une mise-bas au minimum biannuelle pour permettre la persistance virale dans la colonie (Hayman 2015). Une extrapolation à l'ensemble des virus semble

pertinente. Des études confirment cette hypothèse, comme le projet de Luis et al. évoqué précédemment, affirmant qu'à partir des données étudiées, le nombre de portées par an constitue une des trois variables à l'origine de 88% de la variance et est corrélé positivement à la richesse virale (Luis et al. 2013). En effet, les naissances sont à l'origine de l'introduction d'individus naïfs d'un point de vue immunologique, ce qui facilite la transmission des virus.

III.2.iv. Influence de la distribution géographique

Les caractéristiques de la distribution géographique des chauves-souris étudiées semblent avoir elles aussi une influence sur la richesse virale. Il est donc pertinent de s'intéresser à la taille de l'aire de répartition ainsi que sa fragmentation qui sont les deux paramètres suspectés comme ayant le plus d'impact. Une hypothèse est alors qu'une plus grande aire de répartition suggère la présence d'un plus grand nombre de vecteurs et donc de virus sur la zone de distribution, favorisant donc la richesse virale. De même, la fragmentation de cette aire, qui est mesurée en divisant le périmètre par la superficie, semble être une source de diversité de territoires et donc potentiellement de virus présents dans ces territoires, pouvant entraîner une corrélation positive avec la richesse virale. C'est ce qu'a observé l'équipe de Maganga et al. à partir de données expérimentales et issues de la littérature sur des chauves-souris d'Afrique. Une régression multiple standard a mis en évidence une corrélation positive entre la richesse virale et ces deux paramètres de la distribution géographique (Maganga et al. 2014). Cela corrobore les résultats obtenus dans un autre projet similaire portant sur des chauves-souris d'Asie du Sud-Est dont la modélisation à partir de données issues de la littérature a mis en évidence une diminution de la richesse virale lorsque la fragmentation des territoire est moindre (Gay et al. 2014).

III.2.v. Influence du statut de conservation

Par comparaison avec les données obtenues sur d'autres ordres des mammifères, le statut de conservation de l'espèce établi par l'UICN (Union Internationale pour la Conservation de la Nature) semble aussi avoir un impact sur la

richesse virale. Cependant il s'agit d'un marqueur d'une combinaison de paramètres car il influence plus ou moins directement à la fois la taille des populations, la taille de l'aire de répartition et la zone géographique de distribution. En théorie, la population d'une espèce menacée est de manière générale plus petite et fragmentée que les autres espèces, favorisant l'extinction des pathogènes par faible disponibilité d'hôte. Une autre hypothèse est qu'une espèce menacée peut présenter une diversité immunologique réduite, du stress et éventuellement des problèmes de nutrition ce qui, à l'inverse, entrainerait une corrélation positive entre le statut de conservation et la richesse virale. Une étude de 2007 a montré que chez les primates, les taxons les plus menacés présentent un nombre moins important d'agents pathogènes (incluant virus, bactéries, protozoaires, helminthes et arthropodes) que les autres taxons (Altizer, Nunn, Lindenfors 2007). Au contraire, concernant les chiroptères, une étude des facteurs influençant la richesse virale à partir de données publiées sur PubMed et Web of Science avant 2009 a mis en évidence une richesse virale plus importante pour les espèces quasi-menacée et vulnérable (n=4) que les espèces considérées de préoccupation mineure (n=28) (Figure 24). Toutefois ces résultats sont à interpréter avec prudence car les données sont inégales et limitées parmi les catégories établies par l'UICN (Turmelle, Olival 2009).

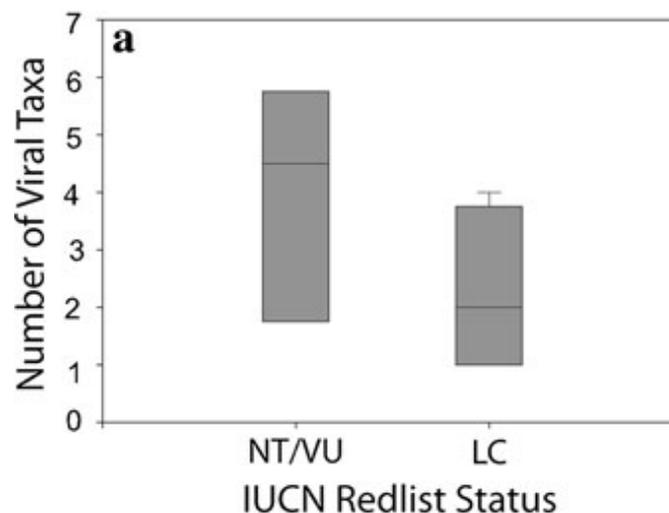


Figure 24. Relation entre le statut de conservation et la richesse virale parmi 32 espèces de chauves-souris. NT/VU signifie near-threatened/vulnerable pour quasi-menacé/vulnérable et LC signifie least concern pour préoccupation mineure (Turmelle, Olival 2009).

III.2.vi. Influence du régime alimentaire

Le régime alimentaire est variable selon les espèces de chiroptères : elles peuvent être insectivores, frugivores, nectarivores, carnivores et sanguinivores. De nombreuses études ont montré l'influence de l'alimentation sur le profil viral retrouvé notamment en cas d'étude métagénomique sur matières fécales. En effet, par ce mode de prélèvement on retrouve à la fois des virus des cellules entériques et des virus non digérés issus de l'alimentation expliquant cette variabilité. L'analyse comparative du virome de *Desmodus rotundus* et *Molossus molossus*, deux espèces sympatriques en Guyane française, respectivement sanguinivore et insectivore a montré une plus grande variété de familles virales chez la seconde espèce. Cela est dû à la présence de virus de plantes et insectes qui composent son alimentation contrairement aux chauves-souris vampires (Salmier et al. 2017). De même, une étude métagénomique réalisée en Chine sur 4440 individus de 40 espèces différentes s'est intéressée au virome et à la comparaison de l'abondance de ce dernier selon le régime alimentaire. Il a ainsi été mis en évidence à partir de ces données que le virome est significativement plus abondant pour les espèces insectivores que les frugivores (Wu et al. 2016).

III.2.vii. Influence des comportements migratoire et d'hibernation

Les espèces de chiroptères effectuant une migration sont au contact d'habitats plus variés que les chauves-souris non-migratrices et semblent être plus susceptibles d'avoir des contacts interspécifiques. Une pensée commune serait ainsi que ces espèces migratrices abriteraient une plus grande richesse de virus que les autres espèces. Toutefois, les résultats de plusieurs études ont mis en évidence une absence de différence concernant la richesse virale entre les chauves-souris à comportement migratoire ou non (Maganga et al. 2014). Une analyse métagénomique sur prélèvement fécal et tissulaire sur 18 espèces de chauves-souris de Suisse a montré que le nombre moyen de virus différents identifiés chez les espèces migratrices est plus faible que chez les autres. En considérant uniquement les virus touchant les vertébrés, la tendance est inversée entre les deux catégories.

Finalement, aucune différence significative n'a été observée, ce qui va à l'encontre des hypothèses habituellement formulées (Hardmeier et al. 2021).

De manière similaire, une hypothèse courante est que l'hibernation est corrélée positivement à la richesse virale. En effet, il s'agit d'une interprétation d'une étude dans laquelle il a été identifié comme un facteur clé de la persistance du virus de la rage chez *Eptesicus fuscus* au Colorado (George et al. 2011). Cependant la modélisation établie par Luis et al. en 2013 à partir de données de la littérature a montré une influence négative de l'hibernation sur la richesse virale. Une explication possible est la diminution drastique de l'exposition aux virus lors de cette période par réduction des contacts intraspécifiques et interspécifiques (Luis et al. 2013).

III.2.viii. Influence du type de perchage

Enfin, le type de zone de perchage utilisé a aussi été suspecté comme facteur déterminant de la richesse virale. Cependant une étude expérimentale menée par Maganga et al. sur 15 espèces de chauves-souris d'Afrique Centrale et de l'Ouest n'a mis en évidence aucune relation entre le comportement de perchage et la variabilité du portage viral (Maganga et al. 2014). A l'heure actuelle, aucune autre étude n'a prouvé l'existence d'une corrélation entre ces deux paramètres.

III.3. Variations liées aux caractéristiques propres à la colonie

Le second type de facteurs de variation est celui pouvant expliquer la variation de richesse virale chez certains chiroptères au sein d'une même espèce. Il est constitué de facteurs géographiques ainsi que de caractéristiques propres à la colonie étudiée.

La localisation de la colonie semble avoir un impact majeur sur la composition du virome. En effet, l'équipe de He et al. a réalisé une analyse métagénomique à partir de différents prélèvements tissulaires sur six espèces de chauves-souris localisées à Sedon et Wutao, deux provinces de Birmanie. Pour deux espèces, *Miniopterus*

fuliginosus et *Rhinolophus ferrumequinum*, le nombre de prélèvements entre les deux sites est assez grand et surtout identique, permettant la comparaison des viromes obtenus. La composition et diversité du portage viral mises en évidence pour chaque espèce est significativement différente en fonction de la localisation. Dans la province de Sedon, *M. fuliginosus* abrite des astrovirus, iflavivirus et bocavirus alors qu'à Wutao, uniquement des iflavivirus et bocavirus ont été identifiés. La différence est plus importante pour *R. ferrumequinum* pour laquelle des circovirus seuls contre des astrovirus, adénovirus et adeno-associated virus ont été respectivement mis en évidence à Sedon et Wutao (Tableau 2) (He et al. 2013).

Tableau 2. Virus identifiés par analyse métagénomique, classés par espèce hôte et province d'origine de l'individu (He et al. 2013)

Virus	Sedon				Wutao					
	M. F.	R. F.	H. A.	M. C.	M. F.	R. F.	H. A.	M. C.	M. L.	H. F.
	n=320	n=92	n=7	n=1	n=320	n=84	n=1	n=10	n=6	n=12
AstV	12(4%)	0	0	0	0	2(2%)	0	0	0	0
IfV	26(8%)	0	0	0	56(18%)	0	0	0	0	0
CV	0	6(7%)	0	0	0	0	0	0	0	0
AdV	0	0	0	0	0	1(1%)	0	0	0	0
AAV	0	0	0	0	0	1(1%)	0	0	0	0
BoV	6(2%)	0	0	0	20(6%)	0	0	0	0	0

*M. F. : *M. fuliginosus*; R. F. : *R. ferrumequinum*; H. A. : *H. armiger*; M. C. : *M. chinensis*; M. L. : *M. lyra*; H. F. : *H. fulvus*; AstV: astrovirus; IfV: iflavivirus; CV: circovirus; AdV: adénovirus; AAV: adeno-associated virus; BoV: bocavirus.

En effet, de nombreux travaux ont suggéré que le rôle de l'environnement et du territoire de vie est significatif dans la diversité du portage viral (Salmier et al. 2017; Bergner et al. 2020; Prada et al. 2019; Li et al. 2010; Hu et al. 2017; Bolatti et al. 2022; Šimić et al. 2020). Une étude récente portant sur cinq espèces de chiroptères d'Argentine a permis de confirmer cette hypothèse et est même allée plus loin en montrant avec les résultats de l'analyse métagénomique que la corrélation existante entre la composition du virome et l'environnement de l'individu hôte est plus grande que celle entre le virome et l'espèce de chauve-souris avec ses caractéristiques propres (Bolatti et al. 2022).

III.3.i. Influence de l'altitude

Un des paramètres environnementaux ayant été décrit comme ayant un impact sur la richesse virale des chiroptères est l'altitude. Une diminution de la diversité bactérienne et d'autres microorganismes a été observée de nombreuses fois chez les chauves-souris mais Bergner et al. ont été les premiers à le démontrer pour les virus. Cette étude a été réalisée sur les chauves-souris vampires (*Desmodus rotundus*) par analyse métagénomique sur fèces et salive sur plusieurs sites du Pérou. Il a ainsi été mis en évidence que la richesse virale diminue avec l'altitude (Figure 25). Le fait que la diversité de proie diminue avec l'altitude peut être à l'origine de ce phénomène. Les espèces hôtes alternatives favorisant les contaminations et les autres vecteurs de virus sont eux aussi limités lorsque l'altitude est élevée. En outre, les conditions environnementales évoluent avec l'altitude et peuvent être plus défavorables à la survie des virus transmis par l'environnement (Bergner et al. 2020).

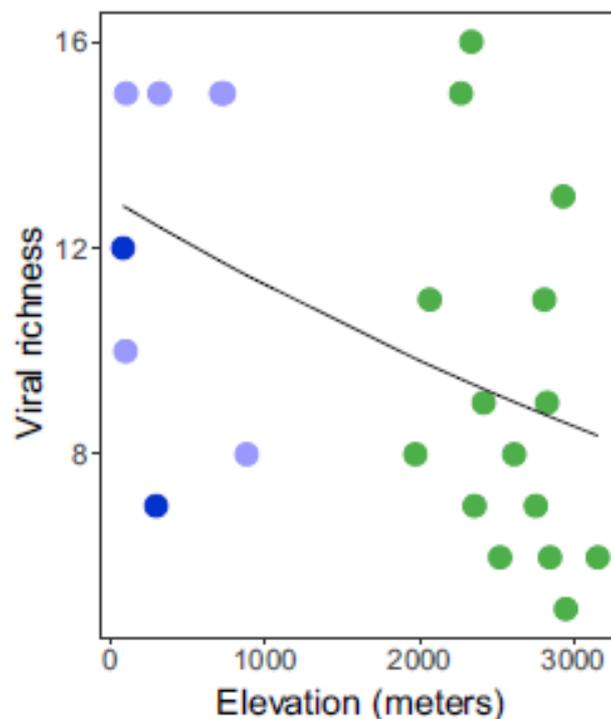


Figure 25. Etude de la richesse virale en fonction de l'altitude de la colonie de *Desmodus rotundus* et modélisation par modèles linéaires généralisés de la relation entre ces deux paramètres en supposant qu'elle soit univariée. Les couleurs correspondent aux différentes écorégions du Pérou (Bleu : la côte, Vert : les Andes, Mauve : l'Amazonie) (Bergner et al. 2020)

III.3.ii. Influence de la latitude

De manière similaire, la latitude a été suggérée comme ayant une corrélation négative avec la diversité virale. En effet, elle semble avoir un effet négatif dans la modélisation de la richesse virale effectuée par Luis et al. citée précédemment (Luis et al. 2013). Cependant, d'autres chercheurs n'ont pas considéré la latitude comme un facteur a étudié seul, car elle présente une corrélation trop importante avec d'autres paramètres tels que le climat local qui eux-mêmes modifient des caractéristiques de la physiologie de l'espèce concernée. Le nombre de portées par an ou le comportement d'hibernation sont par exemple très fortement dépendants du climat local et donc de la latitude (Bergner et al. 2020). Cette dernière semble donc être un facteur indirect, ayant tout de même un effet négatif sur la richesse virale.

III.3.iii. Influence de l'anthropisation des territoires

La présence de l'Homme et l'anthropisation des territoires semblent aussi être des paramètres environnementaux non négligeables. Effectivement, il a été démontré que chez des espèces de rongeurs néotropicaux, l'influence de l'habitat est la plus grande influence de la diversité virale et les zones périurbaines sont les types d'environnement à l'origine de la plus faible richesse virale (Tirera et al. 2021). Une étude portant sur sept espèces de chauves-souris insectivores de Croatie a été réalisée sur onze sites différents du pays et des analyses métagénomiques sur guano, fèces et salive ont été effectuées. Cela a permis de mettre en évidence une différence significative entre la région méditerranéenne et la région continentale. Malgré l'identification de plus de séquences en zone méditerranéenne, qui est plus urbaine, la diversité virale est plus grande en Croatie continentale, une zone plus naturelle et rurale (Šimić et al. 2020). Une des explications possibles est le fait que la diversité d'insectes dont se nourrissent les chauves-souris est plus faible en zone urbaine et même les plantes servant d'alimentation à ces insectes sont moins variées notamment lorsqu'une activité d'agriculture est effectuée sur le territoire.

Concernant *Desmodus rotundus*, la chauve-souris sanguinivore, l'effet de l'anthropisation se manifeste par la densité du bétail. L'étude de Bergner et al. portant sur cette espèce de chiroptère au Pérou a mis en évidence une corrélation négative entre la densité de bétail et la richesse virale (Figure 26). Le contraire aurait pu être attendu car ce facteur est synonyme d'une plus grande source de nourriture que les autres territoires et donc devrait favoriser la taille et densité des colonies de chauves-souris. Cependant, l'exposition virale est réduite en cas d'importante densité de bétail car la faune sauvage est alors moins utilisée comme proie, le spectre alimentaire est plus limité. En outre, une seconde hypothèse est que l'abondance de nourriture permet une meilleure immunité des chiroptères et donc une diversité virale plus faible (Bergner et al. 2020).

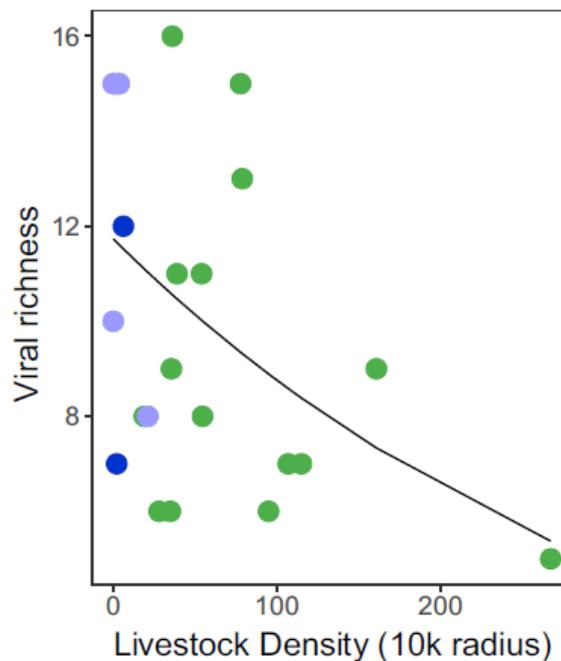


Figure 26. Etude de la richesse virale en fonction de la densité du bétail sur le territoire de *Desmodus rotundus* et modélisation par modèles linéaires généralisés de la relation entre ces deux paramètres en supposant qu'elle soit univariée. Les couleurs correspondent aux différentes écorégions du Pérou (Bleu : la côte, Vert : les Andes, Mauve : l'Amazonie) (Bergner et al. 2020)

III.3.iv. Influence de la taille de la colonie

L'ensemble des données sur la composition d'une colonie de chiroptère est aussi fréquemment pris en compte dans la modélisation des facteurs influençant la richesse virale. Par extrapolation des connaissances sur les maladies infectieuses, la

taille des colonies a été suspectée comme un facteur positif de la richesse virale. En effet, plus une population est grande, plus le nombre d'individus sensibles y est important ce qui favorise la mise en place d'un portage viral et sa persistance (Anderson, May 1986). Cependant la majorité des études ont montré une absence de différence significative en fonction de la taille des colonies (Bergner et al. 2020; Turmelle, Olival 2009). Au contraire une étude de 2014, se fondant sur les données de la littérature sur les espèces de chauves-souris d'Asie du Sud-Est, a mis en évidence les trois paramètres permettant la meilleure modélisation expliquant la richesse virale : l'effort de recherche ayant un impact positif ainsi que la forme de l'aire de répartition et la taille des colonies ayant une corrélation négative (Gay et al. 2014). Ceci va à l'encontre des modèles épidémiologiques habituels. Une explication peut être l'absence de considération des espèces sympatriques et les interactions inter-espèces associées. De plus, les populations les plus grandes ne sont pas toujours associées à une densité importante et le niveau d'organisation sociale de cette population n'est pas pris en compte.

III.3.v. Influence de la proportion d'adulte

Enfin, un autre paramètre de la colonie pris en compte est le profil d'âge des individus de la population prise en considération. Même s'il est en partie dépendant du nombre de reproduction par an et des comportements sociaux de l'espèce, il est variable entre les différentes colonies d'une même espèce de chauves-souris. La richesse virale est négativement corrélée à la proportion d'adulte dans la population, comme l'a montré l'étude réalisée à partir de données métagénomiques sur 24 colonies de *Desmodus rotundus* d'Amérique du Sud (Figure 27) (Bergner et al. 2020).

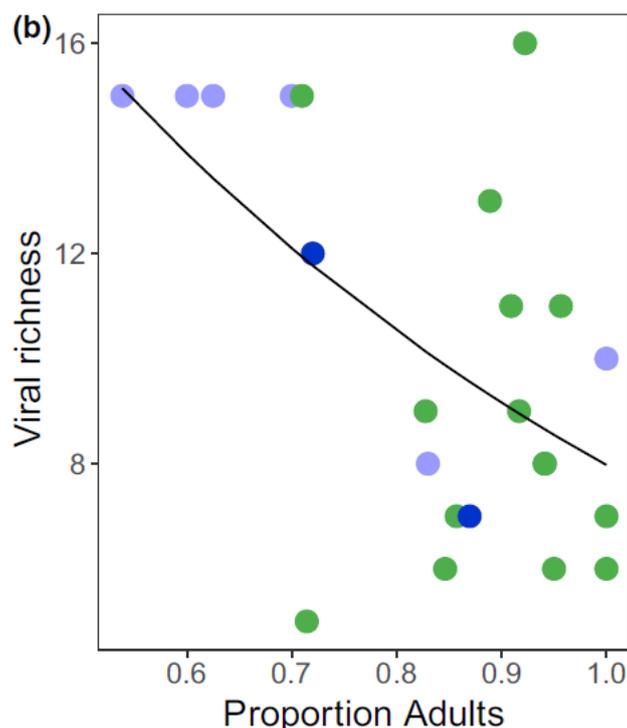


Figure 27. Etude de la richesse virale en fonction de la proportion d'adulte dans la population de *Desmodus rotundus* et modélisation par modèles linéaires généralisés de la relation entre ces deux paramètres en supposant qu'elle soit univariée. Les couleurs correspondent aux différentes écorégions du Pérou (Bleu : la côte, Vert : les Andes, Mauve : l'Amazonie) (Bergner et al. 2020)

III.4. Effets des biais statistiques sur la richesse virale

Les biais techniques sont à l'origine de variations dans les séquences obtenues pour définir le virome des individus. En effet, le choix de l'approche utilisée, métagénomique ou non, et du type d'échantillon prélevé jouent un rôle important sur le résultat et peut rendre la comparaison des viromes complexe voire impossible à interpréter de manière certaine. Les facteurs influençant la richesse virale sont alors difficiles à identifier.

Cependant les biais techniques ne sont pas les seuls présents, d'autres biais rendant une analyse statistique plus complexes sont à prendre en compte. Cela comprend notamment les biais d'échantillonnage dans les études expérimentales et son équivalent lors d'analyses de données issues de la littérature appelé effort de recherche ou effort d'échantillonnage. Ils correspondent au fait que le nombre

d'individus prélevés pour chaque catégorie (espèces, âge ou autre selon le contexte de l'étude) n'est pas identique. Indubitablement, la probabilité de détecter plus de virus dans la catégorie la plus représentée est plus grande que pour les autres catégories, même si la richesse virale est identique au départ. Les résultats sont alors difficiles à interpréter. C'est le cas par exemple de l'étude de Šimić et al. évoquée précédemment dans laquelle le virome de sept espèces de chauves-souris insectivores de Croatie a été identifié. Les séquences obtenues ont montré une richesse virale plus grande pour *Rhinolophus ferrumequinum* et *Miniopterus schreibersii* qui sont aussi les espèces dont les prélèvements sont les plus nombreux. La part de variation liée au biais d'échantillonnage est difficilement évaluable empêchant de conclure de manière certaine sur l'espèce possédant la plus grande diversité virale (Šimić et al. 2020).

Concernant les modélisations utilisant les informations disponibles sur les bases de données, l'effort de recherche est toujours inclus comme paramètre influençant la richesse virale. Il est alors estimé en prenant en compte le nombre de citation dans la base de données. Le modèle de Luis et al. cité précédemment a inclus cet effort d'échantillonnage en prenant le logarithme du nombre de citations de l'espèce considérée. Cela a permis de démontrer, sur la base de ces données, l'existence d'une corrélation positive entre ce paramètre et la richesse virale (Luis et al. 2013). D'autres modélisations de la richesse virale des chiroptères confirment ce résultat comme celle réalisée par Gay et al. qui a mis en évidence de la même manière un corrélation positive entre l'effort d'échantillonnage et la richesse virale chez les chiroptères d'Asie du Sud-Est (Gay et al. 2014).

Conclusion

Les chiroptères possèdent des caractéristiques propres, immunologiques et écologiques notamment, en faisant l'ordre de mammifères ayant le portage viral le plus important. Parmi ces virus, certains sont avérés zoonotiques, d'autres à potentiel zoonotique. Cependant la majeure partie reste non identifiée, d'où la nécessité de multiplier les études concernant les viromes de chauves-souris.

En outre l'ordre des Chiroptères est constitué de plus de 1400 espèces différentes connues à ce jour. Par conséquent une grande diversité est observée tant dans le type de climat de vie, lieu de perchage, organisation sociale, cycle de reproduction et régime alimentaire. Cela entraîne indéniablement une exposition différente au risque de contamination et transmission de virus, à la fois à l'échelle des espèces de chauves-souris mais aussi à l'échelle des individus. En extrapolant les connaissances acquises sur d'autres mammifères à propos de la transmission virale, les chiroptères les plus à risques seraient cavernicoles, vivant en colonies nombreuses et denses, dans un gîte partagé avec d'autres espèces. Avant l'analyse des données expérimentales, une hypothèse serait donc qu'ils aient un comportement migratoire, une organisation sociale complexe avec la présence de maternités notamment, plusieurs périodes de reproduction par an et soient hématophages ou frugivores.

L'analyse et la synthèse des données observées expérimentalement ont permis de définir les facteurs de variation de la richesse virale chez les chiroptères. Certains de ces paramètres s'observent à l'échelle de l'espèce, d'autres à l'échelle de la colonie. Ainsi le poids à l'âge adulte semble présenter une influence positive sur la diversité du portage viral, tout comme l'espérance de vie, le nombre de portées par an, le régime insectivore et la taille et la fragmentation de l'aire de répartition. A l'inverse, la taille des colonies, la proportion d'adultes dans la colonie, l'hibernation, l'altitude, la latitude et l'anthropisation paraissent corrélés négativement à la richesse virale des chiroptères. Contrairement à ce qui était suspecté, le type de perchage et

le comportement migratoire ne semble pas avoir d'influence significative sur le nombre de virus abrité par une espèce de chauves-souris.

Cependant malgré l'amélioration des technologies disponibles, avec par exemple le développement de la métagénomique grâce au séquençage nouvelle génération, de nombreux biais sont toujours présents dans les analyses de virome. Ils sont liés d'une part aux méthodes utilisées pour le traitement des échantillons et d'autre part à la partie du virome ciblée et au biais d'échantillonnage. En outre, des progrès sont à effectuer dans le traitement des séquences générées car il est actuellement essentiellement réalisé par comparaison avec les séquences virales connues laissant de nombreuses nouvelles séquences virales non identifiées si elles sont trop éloignées de virus déjà décrits. Enfin la création d'un protocole commun à tous les projets d'analyses du viromes des chauves-souris, et idéalement de tout virome animal, permettrait une meilleure interprétation des résultats avec la possibilité de comparer les données obtenues entres elles notamment.

Bibliographie

ALLEN, H, 1990. *Hypsignathus H. Allen*, 186. *MAMMALIAN SPECIES*. 1990. pp. 4.

ALTIZER, Sonia, NUNN, Charles L. et LINDENFORS, Patrik, 2007. Do threatened hosts have fewer parasites? A comparative study in primates. *Journal of Animal Ecology*. mars 2007. Vol. 76, n° 2, pp. 304-314. DOI 10.1111/j.1365-2656.2007.01214.x.

AMADOR, Lucila I., MOYERS ARÉVALO, R. Leticia, ALMEIDA, Francisca C., CATALANO, Santiago A. et GIANNINI, Norberto P., 2018. Bat Systematics in the Light of Unconstrained Analyses of a Comprehensive Molecular Supermatrix. *Journal of Mammalian Evolution*. mars 2018. Vol. 25, n° 1, pp. 37-70. DOI 10.1007/s10914-016-9363-8.

ANDERSON, RM et MAY, RM, 1986. The invasion, persistence and spread of infectious diseases within animal and plant communities. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*. 15 décembre 1986. Vol. 314, n° 1167, pp. 533-570. DOI 10.1098/rstb.1986.0072.

BERGNER, Laura M., ORTON, Richard J., BENAVIDES, Julio A., BECKER, Daniel J., TELLO, Carlos, BIEK, Roman et STREICKER, Daniel G., 2020. Demographic and environmental drivers of metagenomic viral diversity in vampire bats. *Molecular Ecology*. janvier 2020. Vol. 29, n° 1, pp. 26-39. DOI 10.1111/mec.15250.

BOHN, Kirsten M., MOSS, Cynthia F. et WILKINSON, Gerald S., 2009. Pup guarding by greater spear-nosed bats. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. octobre 2009. Vol. 63, n° 12, pp. 1693-1703. DOI 10.1007/s00265-009-0776-8.

BOLATTI, Elisa M., VIARENGO, Gastón, ZOREC, Tomaz M., CERRI, Agustina, MONTANI, María E., HOSNJAK, Lea, CASAL, Pablo E., BORTOLOTTI, Eugenia, DI DOMENICA, Violeta, CHOUHY, Diego, ALLASIA, María Belén, BARQUEZ, Rubén M., POLJAK, Mario et GIRI, Adriana A., 2022. Viral Metagenomic Data Analyses of Five New World Bat Species from Argentina: Identification of 35 Novel DNA Viruses. *Microorganisms*. 24 janvier 2022. Vol. 10, n° 2, pp. 266. DOI 10.3390/microorganisms10020266.

BREITWIESER, Florian P, LU, Jennifer et SALZBERG, Steven L, 2019. A review of methods and databases for metagenomic classification and assembly. *Briefings in Bioinformatics*. 19 juillet 2019. Vol. 20, n° 4, pp. 1125-1136. DOI 10.1093/bib/bbx120.

CANN, Alan James, FANDRICH, Sarah Elizabeth et HEAPHY, Shaun, 2005. Analysis of the Virus Population Present in Equine Faeces Indicates the Presence of Hundreds of Uncharacterized Virus Genomes. *Virus Genes*. 2005. pp. 151-156.

CARINI, A, 1911. Sur une grande epizootie de rage. *Ann Inst Pasteur*. 1911. Vol. 25, pp. 843-6.

CARROLL, Dennis, DASZAK, Peter, WOLFE, Nathan D., GAO, George F., MOREL, Carlos M., MORZARIA, Subhash, PABLOS-MÉNDEZ, Ariel, TOMORI, Oyewale et

MAZET, Jonna A. K., 2018. The Global Virome Project. *Science*. 23 février 2018. Vol. 359, n° 6378, pp. 872-874. DOI 10.1126/science.aap7463.

CARTER, Gerald G. et WILKINSON, Gerald S., 2013. Food sharing in vampire bats: reciprocal help predicts donations more than relatedness or harassment. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 22 février 2013. Vol. 280, n° 1753, pp. 20122573. DOI 10.1098/rspb.2012.2573.

CHAVERRI, Gloriana, GILLAM, Erin H. et VONHOF, Maarten J., 2010. Social calls used by a leaf-roosting bat to signal location. *Biology Letters*. 23 août 2010. Vol. 6, n° 4, pp. 441-444. DOI 10.1098/rsbl.2009.0964.

DACHEUX, Laurent, CERVANTES-GONZALEZ, Minerva, GUIGON, Ghislaine, THIBERGE, Jean-Michel, VANDENBOGAERT, Mathias, MAUFRAIS, Corinne, CARO, Valérie et BOURHY, Hervé, 2014. A Preliminary Study of Viral Metagenomics of French Bat Species in Contact with Humans: Identification of New Mammalian Viruses. TSE, Herman (éd.), *PLoS ONE*. 29 janvier 2014. Vol. 9, n° 1, pp. e87194. DOI 10.1371/journal.pone.0087194.

DAVIS, Richard B., HERREID, Clyde F. et SHORT, Henry L., 1962. Mexican Free-Tailed Bats in Texas. *Ecological Monographs*. septembre 1962. Vol. 32, n° 4, pp. 311-346. DOI 10.2307/1942378.

DECHMANN, Dina K. N. et KERTH, G., 2008. My Home Is Your Castle: Roost Making Is Sexually Selected in the Bat *Lophostoma silvicolum*. *Journal of Mammalogy*. 16 décembre 2008. Vol. 89, n° 6, pp. 1379-1390. DOI 10.1644/08-MAMM-S-061.1.

DECHMANN, Dina K. N., KRANSTAUBER, Bart, GIBBS, David et WIKELSKI, Martin, 2010. Group Hunting—A Reason for Sociality in Molossid Bats? THOMAS, Adrian L.R. (éd.), *PLoS ONE*. 3 février 2010. Vol. 5, n° 2, pp. e9012. DOI 10.1371/journal.pone.0009012.

DONALDSON, Eric F., HASKEW, Aimee N., GATES, J. Edward, HUYNH, Jeremy, MOORE, Clea J. et FRIEMAN, Matthew B., 2010. Metagenomic Analysis of the Viromes of Three North American Bat Species: Viral Diversity among Different Bat Species That Share a Common Habitat. *Journal of Virology*. 15 décembre 2010. Vol. 84, n° 24, pp. 13004-13018. DOI 10.1128/JVI.01255-10.

DOS REIS, Mario, DONOGHUE, Philip C. J. et YANG, Ziheng, 2014. Neither phylogenomic nor palaeontological data support a Palaeogene origin of placental mammals. *Biology Letters*. janvier 2014. Vol. 10, n° 1, pp. 20131003. DOI 10.1098/rsbl.2013.1003.

DWYER, P. D., 1968. The little bent-winged bat evolution in progress. *Australian Natural History*. 1968. Vol. 1968, pp. 55-58.

EDET, U, ANTAI, S, BROOKS, A, ASITOK, A, ENYA, O et JAPHET, F, 2017. An Overview of Cultural, Molecular and Metagenomic Techniques in Description of Microbial Diversity. *Journal of Advances in Microbiology*. 19 décembre 2017. Vol. 7, n° 2, pp. 1-19. DOI 10.9734/JAMB/2017/37951.

EDWARDS, Christine E., SWIFT, Joel F., LANCE, Richard F., MINCKLEY, Thomas A. et LINDSAY, Denise L., 2019. Evaluating the efficacy of sample collection approaches and DNA metabarcoding for identifying the diversity of plants utilized by nectivorous bats.

ZHOU, X. (éd.), *Genome*. janvier 2019. Vol. 62, n° 1, pp. 19-29. DOI 10.1139/gen-2018-0102.

ELIZALDE-ARELLANO, Cynthia, LÓPEZ-VIDAL, Juan Carlos, ARROYO-CABRALES, Joaquín, MEDELLÍN, Rodrigo A. et LAUNDRÉ, John W., 2007. Food sharing behavior in the hairy-legged vampire bat *Diphylla ecaudata*. *Acta Chiropterologica*. avril 2007. Vol. 9, n° 1, pp. 314-319. DOI 10.3161/1733-5329(2007)9[314:FSBITH]2.0.CO;2.

FINDLEY, J. S. et WILSON, D. E., 1974. Observations on the Neotropical Disk-Winged Bat, *Thyroptera tricolor* Spix. *Journal of Mammalogy*. 20 août 1974. Vol. 55, n° 3, pp. 562-571. DOI 10.2307/1379546.

FRANCO FILHO, Luciano Chaves, BARATA, Rafael Ribeiro, CARDOSO, Jedson Ferreira, MASSAFRA, Janaina Mota de Vasconcelos, LEMOS, Poliana da Silva, CASSEB, Livia Medeiros Neves, CRUZ, Ana Cecilia Ribeiro et NUNES, Marcio Roberto Teixeira, 2019. Metagenomic Analysis of Samples from Three Bat Species Collected in the Amazon Rain Forest. MARESCA, Julia A. (éd.), *Microbiology Resource Announcements*. 10 janvier 2019. Vol. 8, n° 2, pp. e01422-18. DOI 10.1128/MRA.01422-18.

GAY, Noellie, OLIVAL, Kevin J., BUMRUNGSRI, Sara, SIRIAROONRAT, Boripat, BOURGAREL, Mathieu et MORAND, Serge, 2014. Parasite and viral species richness of Southeast Asian bats: Fragmentation of area distribution matters. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*. août 2014. Vol. 3, n° 2, pp. 161-170. DOI 10.1016/j.ijppaw.2014.06.003.

GEORGE, Dylan B., WEBB, Colleen T., FARNSWORTH, Matthew L., O'SHEA, Thomas J., BOWEN, Richard A., SMITH, David L., STANLEY, Thomas R., ELLISON, Laura E. et RUPPRECHT, Charles E., 2011. Host and viral ecology determine bat rabies seasonality and maintenance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 21 juin 2011. Vol. 108, n° 25, pp. 10208-10213. DOI 10.1073/pnas.1010875108.

GHURYE, Jay S., CEPEDA-ESPINOZA, Victoria et POP, Mihai, 2016. Metagenomic Assembly: Overview, Challenges and Applications. *The Yale Journal of Biology and Medicine*. 30 septembre 2016. Vol. 89, n° 3, pp. 353-362.

GUAL-SUÁREZ, Fernando et MEDELLÍN, Rodrigo A., 2021. We eat meat: a review of carnivory in bats. *Mammal Review*. octobre 2021. Vol. 51, n° 4, pp. 540-558. DOI 10.1111/mam.12254.

HAMMARIN, Anna-Lena, BERNDTSSON, Louise Treiberg, FALK, Kerstin, NEDINGE, Marie, OLSSON, Gert et LUNDKVIST, Åke, 2016. Lyssavirus-reactive antibodies in Swedish bats. *Infection Ecology & Epidemiology*. janvier 2016. Vol. 6, n° 1, pp. 31262. DOI 10.3402/iee.v6.31262.

HANDELSMAN, Jo, RONDON, Michelle R., BRADY, Sean F., CLARDY, Jon et GOODMAN, Robert M., 1998. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. *Chemistry & Biology*. octobre 1998. Vol. 5, n° 10, pp. R245-R249. DOI 10.1016/S1074-5521(98)90108-9.

HARDMEIER, Isabelle, AEBERHARD, Nadja, QI, Weihong, SCHOENBAECHLER, Katja, KRAETTLI, Hubert, HATT, Jean-Michel, FRAEFEL, Cornel et KUBACKI, Jakub, 2021. Metagenomic analysis of fecal and tissue samples from 18 endemic bat species in Switzerland

revealed a diverse virus composition including potentially zoonotic viruses. KAPOOR, Amit (éd.), *PLOS ONE*. 16 juin 2021. Vol. 16, n° 6, pp. e0252534. DOI 10.1371/journal.pone.0252534.

HARVEY, Erin et HOLMES, Edward C., 2022. Diversity and evolution of the animal virome. *Nature Reviews Microbiology*. juin 2022. Vol. 20, n° 6, pp. 321-334. DOI 10.1038/s41579-021-00665-x.

HAYMAN, David T. S., 2015. Biannual birth pulses allow filoviruses to persist in bat populations. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 22 mars 2015. Vol. 282, n° 1803, pp. 20142591. DOI 10.1098/rspb.2014.2591.

HAYMAN, David T.S., 2016. Bats as Viral Reservoirs. *Annual Review of Virology*. 29 septembre 2016. Vol. 3, n° 1, pp. 77-99. DOI 10.1146/annurev-virology-110615-042203.

HE, Biao, LI, Zuosheng, YANG, Fanli, ZHENG, Junfeng, FENG, Ye, GUO, Huancheng, LI, Yingying, WANG, Yiyin, SU, Nan, ZHANG, Fuqiang, FAN, Quanshui et TU, Changchun, 2013. Virome Profiling of Bats from Myanmar by Metagenomic Analysis of Tissue Samples Reveals More Novel Mammalian Viruses. TSE, Herman (éd.), *PLoS ONE*. 22 avril 2013. Vol. 8, n° 4, pp. e61950. DOI 10.1371/journal.pone.0061950.

HERMIDA LORENZO, Roberto J., CADAR, Dániel, KOUNDOUNO, Fara Raymond, JUSTE, Javier, BIALONSKI, Alexandra, BAUM, Heike, GARCÍA-MUDARRA, Juan Luis, HAKAMAKI, Henry, BENCSIK, András, NELSON, Emily V., CARROLL, Miles W., MAGASSOUBA, N'Faly, GÜNTHER, Stephan, SCHMIDT-CHANASIT, Jonas, MUÑOZ FONTELA, César et ESCUDERO-PÉREZ, Beatriz, 2021. Metagenomic Snapshots of Viral Components in Guinean Bats. *Microorganisms*. 15 mars 2021. Vol. 9, n° 3, pp. 599. DOI 10.3390/microorganisms9030599.

HU, Dan, ZHU, Changqiang, WANG, Yi, AI, Lele, YANG, Lu, YE, Fuqiang, DING, Chenxi, CHEN, Jiafeng, HE, Biao, ZHU, Jin, QIAN, Hui, XU, Wenrong, FENG, Youjun, TAN, Weilong et WANG, Changjun, 2017. Virome analysis for identification of novel mammalian viruses in bats from Southeast China. *Scientific Reports*. décembre 2017. Vol. 7, n° 1, pp. 10917. DOI 10.1038/s41598-017-11384-w.

IRVING, Aaron T., NG, Justin H. J., BOYD, Victoria, DUTERTRE, Charles-Antoine, GINHOUX, Florent, DEKKERS, Milou H., MEERS, Joanne, FIELD, Hume E., CRAMERI, Gary et WANG, Lin-Fa, 2020. Optimizing dissection, sample collection and cell isolation protocols for frugivorous bats. GILBERT, M. (éd.), *Methods in Ecology and Evolution*. janvier 2020. Vol. 11, n° 1, pp. 150-158. DOI 10.1111/2041-210X.13325.

KERTH, Gerald, PERONY, Nicolas et SCHWEITZER, Frank, 2011. Bats are able to maintain long-term social relationships despite the high fission–fusion dynamics of their groups. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 22 septembre 2011. Vol. 278, n° 1719, pp. 2761-2767. DOI 10.1098/rspb.2010.2718.

KLENNER, Jeanette, KOHL, Claudia, DABROWSKI, Piotr Wojtek et NITSCHKE, Andreas, 2017. Comparing Viral Metagenomic Extraction Methods. *Current Issues in Molecular Biology*. 2017. pp. 59-70. DOI 10.21775/cimb.024.059.

KOHL, Claudia, 2021. The virome of German bats: comparing virus discovery approaches. *Scientific Reports*. 2021. pp. 18.

KUNZ, Thomas H., 1982. Roosting Ecology of Bats. In : KUNZ, Thomas H. (éd.), *Ecology of Bats* [en ligne]. Boston, MA : Springer US. pp. 1-55. [Consulté le 4 décembre 2021]. ISBN 978-1-4613-3423-1. Disponible à l'adresse : http://link.springer.com/10.1007/978-1-4613-3421-7_1

KUNZ, Thomas H. et PIERSON, ED, 1994. Bats of the world : an introduction. In : *Walker's bats of the world*. Nowak RW. Baltimore. pp. p1-46.

LI, Linlin, VICTORIA, Joseph G., WANG, Chunlin, JONES, Morris, FELLERS, Gary M., KUNZ, Thomas H. et DELWART, Eric, 2010. Bat Guano Virome: Predominance of Dietary Viruses from Insects and Plants plus Novel Mammalian Viruses. *Journal of Virology*. 15 juillet 2010. Vol. 84, n° 14, pp. 6955-6965. DOI 10.1128/JVI.00501-10.

LI, Yanpeng, ALTAN, Eda, REYES, Gabriel, HALSTEAD, Brian, DENG, Xutao et DELWART, Eric, 2021. Virome of Bat Guano from Nine Northern California Roosts. PFEIFFER, Julie K. (éd.), *Journal of Virology* [en ligne]. 13 janvier 2021. Vol. 95, n° 3. [Consulté le 4 novembre 2021]. DOI 10.1128/JVI.01713-20. Disponible à l'adresse : <https://journals.asm.org/doi/10.1128/JVI.01713-20>

LOEFFLER, F. A. J. et FROSCHE, P., 1898. Berichte der Kommission zur Erforschung der Maulandklauenseuche bei dem Institut Infektionskrankheiten in Berlin. *Zentralblatt Bakteriologie, Parasitenkunde Infektionskrankheiten, Abt. I*. 1898. Vol. 23, pp. 371-391.

LUIS, Angela D., HAYMAN, David T. S., O'SHEA, Thomas J., CRYAN, Paul M., GILBERT, Amy T., PULLIAM, Juliet R. C., MILLS, James N., TIMONIN, Mary E., WILLIS, Craig K. R., CUNNINGHAM, Andrew A., FOOKS, Anthony R., RUPPRECHT, Charles E., WOOD, James L. N. et WEBB, Colleen T., 2013. A comparison of bats and rodents as reservoirs of zoonotic viruses: are bats special? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 7 avril 2013. Vol. 280, n° 1756, pp. 20122753. DOI 10.1098/rspb.2012.2753.

MAGANGA, Gaël D., BOURGAREL, Mathieu, VALLO, Peter, DALLO, Thierno D., NGOAGOUNI, Carine, DREXLER, Jan Felix, DROSTEN, Christian, NAKOUNÉ, Emmanuel R., LEROY, Eric M. et MORAND, Serge, 2014. Bat Distribution Size or Shape as Determinant of Viral Richness in African Bats. BAKER, Michelle L. (éd.), *PLoS ONE*. 24 juin 2014. Vol. 9, n° 6, pp. e100172. DOI 10.1371/journal.pone.0100172.

MCCRACKEN, Gary F. et GUSTIN, Mary K., 2010. Nursing Behavior in Mexican Free-tailed Bat Maternity Colonies. *Ethology*. 26 avril 2010. Vol. 89, n° 4, pp. 305-321. DOI 10.1111/j.1439-0310.1991.tb00376.x.

MCCRACKEN, GF, 2006. Roosting Ecology and Population Biology. In : *Functional and evolutionary ecology of bats*.

MCNAMARA, Ryan P. et DITTMER, Dirk P., 2020. Modern Techniques for the Isolation of Extracellular Vesicles and Viruses. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. septembre 2020. Vol. 15, n° 3, pp. 459-472. DOI 10.1007/s11481-019-09874-x.

MISHRA, Nischay, FAGBO, Shamsudeen F., ALAGAILI, Abdulaziz N., NITIDO, Adam, WILLIAMS, Simon H., NG, James, LEE, Bohyun, DUROSINLORUN, Abdulkareem, GARCIA, Joel A., JAIN, Komal, KAPOOR, Vishal, EPSTEIN, Jonathan H., BRIESE, Thomas, MEMISH, Ziad A., OLIVAL, Kevin J. et LIPKIN, W. Ian, 2019. A viral

metagenomic survey identifies known and novel mammalian viruses in bats from Saudi Arabia. MARKOTTER, Wanda (éd.), *PLOS ONE*. 10 avril 2019. Vol. 14, n° 4, pp. e0214227. DOI 10.1371/journal.pone.0214227.

MYERS, Philip, 1978. Sexual Dimorphism in Size of Vespertilionid Bats. *The American Naturalist*. juillet 1978. Vol. 112, n° 986, pp. 701-711. DOI 10.1086/283312.

NAGARAJAN, Niranjan et POP, Mihai, 2013. Sequence assembly demystified. *Nature Reviews Genetics*. mars 2013. Vol. 14, n° 3, pp. 157-167. DOI 10.1038/nrg3367.

NAKAGOMI, Osamu, 2013. Fundamentals of Ultracentrifugal Virus Purification. . 2013.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2007. *Designing a Successful Metagenomics Project: Best Practices and Future Needs* [en ligne]. National Academies Press (US). [Consulté le 27 juin 2022]. Disponible à l'adresse : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54007/>

NEWMAN, Scott H. et FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (éd.), 2011. *Investigating the role of bats in emerging zoonoses: balancing ecology, conservation and public health interest*. Rome : Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO animal production and health manual, 12. ISBN 978-92-5-107028-4. RA641.B38 I58 2011

OXBERRY, B. A., 1979. Female reproductive patterns in hibernating bats. . 1979. N° 56, pp. 359-367.

PRADA, Diana, BOYD, Victoria, BAKER, Michelle L., O'DEA, Mark et JACKSON, Bethany, 2019. Viral Diversity of Microbats within the South West Botanical Province of Western Australia. *Viruses*. 13 décembre 2019. Vol. 11, n° 12, pp. 1157. DOI 10.3390/v11121157.

RACEY, Paul A. et ENTWISTLE, Abigail C., 2000. Life-history and Reproductive Strategies of Bats. In : *Reproductive Biology of Bats* [en ligne]. Elsevier. pp. 363-414. [Consulté le 30 janvier 2022]. ISBN 978-0-12-195670-7. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780121956707500102>

SALMIER, Arielle, 2016. Réponses des chiroptères aux environnements : diversité virale et potentiel d'adaptation. . 2016. pp. 217.

SALMIER, Arielle, TIRERA, Sourakhata, DE THOISY, Benoit, FRANC, Alain, DARCISSAC, Edith, DONATO, Damien, BOUCHIER, Christiane, LACOSTE, Vincent et LAVERGNE, Anne, 2017. Virome analysis of two sympatric bat species (*Desmodus rotundus* and *Molossus molossus*) in French Guiana. FORRESTER, Naomi (éd.), *PLOS ONE*. 8 novembre 2017. Vol. 12, n° 11, pp. e0186943. DOI 10.1371/journal.pone.0186943.

SHAFFER, Justin P, CARPENTER, Carolina S, MARTINO, Cameron, SALIDO, Rodolfo A, MINICH, Jeremiah J, BRYANT, MacKenzie, SANDERS, Karenina, SCHWARTZ, Tara, HUMPHREY, Gregory, SWAFFORD, Austin D et KNIGHT, Rob, 2022. A comparison of six DNA extraction protocols for 16S, ITS and shotgun metagenomic sequencing of microbial communities. *BioTechniques*. 17 juin 2022. pp. btn-2022-0032. DOI 10.2144/btn-2022-0032.

ŠIMIĆ, Ivana, ZOREC, Tomaž Mark, LOJKIĆ, Ivana, KREŠIĆ, Nina, POLJAK, Mario, CLIQUET, Florence, PICARD-MEYER, Evelyne, WASNIEWSKI, Marine, ZRNČIĆ, Vida, ČUKUŠIĆ, Anđela et BEDEKOVIĆ, Tomislav, 2020. Viral Metagenomic Profiling of Croatian Bat Population Reveals Sample and Habitat Dependent Diversity. *Viruses*. 14 août 2020. Vol. 12, n° 8, pp. 891. DOI 10.3390/v12080891.

SIMMONS, Nancy B., 2005. *Order Chiroptera*. Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference.

SIMON, Carola et DANIEL, Rolf, 2011. Metagenomic Analyses: Past and Future Trends. *Applied and Environmental Microbiology*. 15 février 2011. Vol. 77, n° 4, pp. 1153-1161. DOI 10.1128/AEM.02345-10.

TANEJA, Veena, 2017. Microbiome. In : *Principles of Gender-Specific Medicine* [en ligne]. Elsevier. pp. 569-583. [Consulté le 20 mars 2022]. ISBN 978-0-12-803506-1. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128035061000279>

THOMAS, D. W. et MARSHALL, A. G., 1984. Reproduction and growth in three species of West African fruit bats. *Journal of Zoology*. février 1984. Vol. 202, n° 2, pp. 265-281. DOI 10.1111/j.1469-7998.1984.tb05954.x.

THOMAS, Torsten, GILBERT, Jack et MEYER, Folker, 2012. Metagenomics - a guide from sampling to data analysis. . 2012. pp. 12.

TIRERA, Sourakhata, DE THOISY, Benoit, DONATO, Damien, BOUCHIER, Christiane, LACOSTE, Vincent, FRANC, Alain et LAVERGNE, Anne, 2021. The Influence of Habitat on Viral Diversity in Neotropical Rodent Hosts. *Viruses*. 26 août 2021. Vol. 13, n° 9, pp. 1690. DOI 10.3390/v13091690.

TURMELLE, Amy S. et OLIVAL, Kevin J., 2009. Correlates of Viral Richness in Bats (Order Chiroptera). *EcoHealth*. décembre 2009. Vol. 6, n° 4, pp. 522-539. DOI 10.1007/s10393-009-0263-8.

TUTTLE, Merlin D., 1979. Status, Causes of Decline, and Management of Endangered Gray Bats. *The Journal of Wildlife Management*. janvier 1979. Vol. 43, n° 1, pp. 1. DOI 10.2307/3800631.

UNIVERSITY OF MICHIGAN MUSEUM OF ZOOLOGY, 2022. Animal Diversity Web. *Animal Diversity Web* [en ligne]. 12 mars 2022. [Consulté le 24 avril 2022]. Disponible à l'adresse : <https://animaldiversity.org/>

VAN BRUSSEL, Kate et HOLMES, Edward C, 2022. Zoonotic disease and virome diversity in bats. *Current Opinion in Virology*. février 2022. Vol. 52, pp. 192-202. DOI 10.1016/j.coviro.2021.12.008.

VAUGHAN, T. A., 1976. Nocturnal Behavior of the African False Vampire Bat (*Cardiaderma cor*). *Journal of Mammalogy*. 20 mai 1976. Vol. 57, n° 2, pp. 227-248. DOI 10.2307/1379685.

VICTORIA, Joseph G., KAPOOR, Amit, LI, Linlin, BLINKOVA, Olga, SLIKAS, Beth, WANG, Chunlin, NAEEM, Asif, ZAIDI, Sohail et DELWART, Eric, 2009. Metagenomic

Analyses of Viruses in Stool Samples from Children with Acute Flaccid Paralysis. *Journal of Virology*. mai 2009. Vol. 83, n° 9, pp. 4642-4651. DOI 10.1128/JVI.02301-08.

VIRGIN, Herbert W., 2014. The Virome in Mammalian Physiology and Disease. *Cell*. mars 2014. Vol. 157, n° 1, pp. 142-150. DOI 10.1016/j.cell.2014.02.032.

WANG, Jing, MOORE, Nicole E., MURRAY, Zak L., MCINNES, Kate, WHITE, Daniel J., TOMPKINS, Daniel M. et HALL, Richard J., 2015. Discovery of novel virus sequences in an isolated and threatened bat species, the New Zealand lesser short-tailed bat (*Mystacina tuberculata*). *Journal of General Virology*. 1 août 2015. Vol. 96, n° 8, pp. 2442-2452. DOI 10.1099/vir.0.000158.

WILKINSON, Gerald S., 2019. Vampire bats. *Current Biology*. décembre 2019. Vol. 29, n° 23, pp. R1216-R1217. DOI 10.1016/j.cub.2019.10.052.

WILKINSON, Gerald S., CARTER, Gerald G., BOHN, Kirsten M. et ADAMS, Danielle M., 2016. Non-kin cooperation in bats. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 5 février 2016. Vol. 371, n° 1687, pp. 20150095. DOI 10.1098/rstb.2015.0095.

WILSON, Don E., MITTERMEIER, Russell A. et CAVALLINI, Paolo (éd.), 2009. *Handbook of the mammals of the world*. Barcelona : Lynx Edicions : Conservation International : IUCN. ISBN 978-84-96553-49-1. QL703 .H355 2009

WRAY, Amy K., OLIVAL, Kevin J., MORÁN, David, LOPEZ, Maria Renee, ALVAREZ, Danilo, NAVARRETE-MACIAS, Isamara, LIANG, Eliza, SIMMONS, Nancy B., LIPKIN, W. Ian, DASZAK, Peter et ANTHONY, Simon J., 2016. Viral Diversity, Prey Preference, and Bartonella Prevalence in *Desmodus rotundus* in Guatemala. *EcoHealth*. décembre 2016. Vol. 13, n° 4, pp. 761-774. DOI 10.1007/s10393-016-1183-z.

WU, Z., REN, X., YANG, L., HU, Y., YANG, J., HE, G., ZHANG, J., DONG, J., SUN, L., DU, J., LIU, L., XUE, Y., WANG, J., YANG, F., ZHANG, S. et JIN, Q., 2012. Virome Analysis for Identification of Novel Mammalian Viruses in Bat Species from Chinese Provinces. *Journal of Virology*. 15 octobre 2012. Vol. 86, n° 20, pp. 10999-11012. DOI 10.1128/JVI.01394-12.

WU, Zhiqiang, YANG, Li, REN, Xianwen, HE, Guimei, ZHANG, Junpeng, YANG, Jian, QIAN, Zhaohui, DONG, Jie, SUN, Lilian, ZHU, Yafang, DU, Jiang, YANG, Fan, ZHANG, Shuyi et JIN, Qi, 2016. Deciphering the bat virome catalog to better understand the ecological diversity of bat viruses and the bat origin of emerging infectious diseases. *The ISME Journal*. mars 2016. Vol. 10, n° 3, pp. 609-620. DOI 10.1038/ismej.2015.138.

YE, Simon H, SIDDLE, Katherine J, PARK, Daniel J et SABETI, Pardis C, 2019. Benchmarking Metagenomics Tools for Taxonomic Classification. *Cell*. 8 août 2019. Vol. 178, n° 4, pp. 779-794. DOI 10.1016/j.cell.2019.07.010.

ZHANG, Guojie, COWLED, Christopher, SHI, Zhengli, HUANG, Zhiyong, BISHOP-LILLY, Kimberly A., FANG, Xiaodong, WYNNE, James W., XIONG, Zhiqiang, BAKER, Michelle L., ZHAO, Wei, TACHEDJIAN, Mary, ZHU, Yabing, ZHOU, Peng, JIANG, Xuanting, NG, Justin, YANG, Lan, WU, Lijun, XIAO, Jin, FENG, Yue, CHEN, Yuanxin, SUN, Xiaoqing, ZHANG, Yong, MARSH, Glenn A., CRAMERI, Gary, BRODER, Christopher C., FREY, Kenneth G., WANG, Lin-Fa et WANG, Jun, 2013. Comparative

Analysis of Bat Genomes Provides Insight into the Evolution of Flight and Immunity.
Science. 25 janvier 2013. Vol. 339, n° 6118, pp. 456-460. DOI 10.1126/science.1230835.

ZHANG, Qingpeng, 2018. Metagenome Assembly and Contig Assignment. In : BEIKO, Robert G., HSIAO, Will et PARKINSON, John (éd.), *Microbiome Analysis* [en ligne]. New York, NY : Springer New York. pp. 179-192. *Methods in Molecular Biology*. [Consulté le 20 août 2022]. ISBN 978-1-4939-8726-9. Disponible à l'adresse : http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-8728-3_12

Annexes

Annexe 1. Classification actuelle des Chiroptères (Wilson, Mittermeier, Cavallini 2009)

Sous-ordre	Famille	Caractéristiques
Yinpterochiroptera	Pteropodidae	46 genres, 191 espèces Zones tropicales et subtropicales Ancien monde, Australie, Iles du Pacifique
	Rhinolophidae	1 genre, 109 espèces Europe, Asie, Afrique, Australie
	Hipposideridae	7 genres, 88 espèces Afrique, Asie Centrale et du Sud-est, Australie, Inde
	Rhinonycteridae	4 genres, 9 espèces Afrique de l'Est, Australie
	Megadermatidae	6 genres, 6 espèces Afrique, Asie Centrale et du Sud-est, Australie, Inde
	Craseonycteridae	1 genre, 1 espèce Thaïlande, Birmanie
	Rhinopomatidae	1 genre, 6 espèces Afrique, Asie
Yangochiroptera	Emballonuridae	14 genres, 54 espèces Zones tropicales et subtropicales
	Nycteridae	1 genre, 15 espèces Afrique, Indonésie, Madagascar
	Phyllostomatidae	60 genres, 217 espèces Sud-ouest Etats-Unis au Nord Argentine, Caraïbes
	Mormoopidae	2 genres, 18 espèces Sud Etats-Unis, Amérique Centrale, Nord de l'Amérique du Sud
	Noctilionidae	1 genre, 2 espèces Amérique Centrale et du Sud, Antilles, Bahamas
	Furipteridae	2 genres, 2 espèces Sud Amérique Centrale, Zone tropicale de l'Amérique du Sud
	Thyropteridae	1 genre, 5 espèces Amérique centrale et Amérique du Sud
	Mystacinidae	1 genre, 2 espèces Nouvelle-Zélande
	Myzopodidae	1 genre, 2 espèces Madagascar
	Vespertilionidae	54 genres, 496 espèces Régions tropicales et tempérées du monde
	Cystugidae	1 genre, 2 espèces Sud de l'Afrique
	Miniopteridae	1 genre, 38 espèces Afrique, Madagascar, Japon, Sud Eurasie
	Molossidae	22 genres, 126 espèces Zones tropicales à tempérées
	Natalidae	3 genres, 12 espèces Zones tropicales Amérique Centrale et du Sud, Antilles et Iles voisines

Annexe 2. Pattern de reproduction des chauves-souris femelles en fonction de leur famille (Racey, Entwistle 2000)

Family	Pattern of reproduction	Example	Reference
Pteropodidae	● restricted seasonal monoestry	<i>Eidolon helvum</i>	Mutere, 1965
	● extended seasonal monoestry	<i>Rousettus aegyptiacus</i>	Smithers, 1983
	● continuous bimodal polyoestry with postpartum oestrus	<i>Epomophorus anurus</i>	Okia, 1974
	● aseasonal polyoestry	<i>Epomophorus wahlbergi</i>	Happold and Happold, 1990a
Rhinolophidae	● restricted seasonal monoestry	<i>Rhinolophus clivosus</i>	Bernard, 1983
	● extended seasonal monoestry	<i>Rhinolophus blasii</i>	Happold and Happold, 1990a
Emballonuridae	● seasonal bimodal polyoestry	<i>Taphozous mauritanus</i>	O'Shea and Vaughan, 1980
Nycteridae	● restricted seasonal monoestry	<i>Nycteris thebaica</i>	Bernard, 1982b
Megadermatidae	● restricted seasonal monoestry	<i>Lavia frons</i>	Vaughan and Vaughan, 1986
	● seasonal bimodal polyoestry	<i>Coleura afra</i>	McWilliam, 1987c
Hipposideridae	● restricted seasonal monoestry	<i>Hipposideros caffer</i>	Bernard and Meester, 1982
	● extended seasonal monoestry		
Vespertilionidae	● restricted seasonal monoestry	<i>Myotis tricolor</i>	Bernard, 1982a
	● aseasonal (monoestry?)	<i>Pipistrellus nanus</i>	Happold and Happold, 1990b
Molossidae	● restricted seasonal monoestry	<i>Otomops martiensseni</i>	Mutere, 1973a
	● seasonal bimodal polyoestry with postpartum oestrus	<i>Tadarida condylurus</i>	Happold and Happold, 1989
	● seasonal bimodal polyoestry without postpartum oestrus	<i>Tadarida condylurus</i>	Mutere, 1973b
	● continuous multimodal polyoestry with postpartum oestrus	<i>Tadarida pumila</i>	Happold and Happold, 1990a
	● continuous multimodal polyoestry without postpartum oestrus	<i>Tadarida pumila</i>	Mutere, 1973b
Phyllostomidae	● seasonal monoestry	<i>Leptonycteris nivalis</i>	Davis, 1966
	● aseasonal monoestry		
	● seasonal bimodal polyoestry with post-partum oestrus	<i>Artibeus jamaicensis</i>	Fleming, 1971
	● seasonal bimodal polyoestry	<i>Carollia perspicillata</i>	Heithaus et al., 1975
	● continuous multimodal polyoestry	<i>Desmodus rotundus</i>	Wimsatt and Trapido, 1952

Annexe 3. Résumé des caractéristiques de l'écologie des différentes familles de chiroptères (Racey, Entwistle 2000; University of Michigan Museum of Zoology 2022)

Sous-ordre	Famille	Habitat	Comportements sociaux	Reproduction	Alimentation
Yinpterochiroptera	Pteropodidae	Région tropicale à subtropicale de l'Ancien Monde Surtout arboricoles, sinon grotte/mines/crevasses Certaines espèces migratrices	Principalement par petits groupes (quelques espèces vivant en colonies allant jusqu'à plusieurs milliers)	Variable de monoestrus saisonnier à polyestrus non saisonnier Fécondation différée selon l'environnement 1 petit par portée mais jumeaux fréquents	Fruits, nectar et pollen
	Rhinolophidae	Région tempérée à tropicale Majorité cavernicole, certaines préfèrent les troncs d'arbres ou branches Hibernation pour les espèces les plus nordiques	Grandes colonies principalement	Monoestrus saisonnier Fécondation différée pour les espèces du Nord 1 seul petit par portée	Insectes
	Hipposideridae	Région tropicale à subtropicale de l'Ancien Monde Surtout en espaces clos et sombres, certaines à l'air libre Migration décrite, hibernation pour certaines espèces	Variable de solitaire à colonies de plus de 500 000 individus toujours espacés Partage de gîte inter-espèces	De monoestrus saisonnier à polyestrus saisonnier selon localisation Fécondation différée 1 seul petit par portée	Insectes (rarement mixte carnivore)
	Rhinonycteridae	Région paléotropicale Cavernicoles majoritairement, un peu sylvicoles	Maintien d'une distance conspécifique Colonies jusqu'à plusieurs milliers d'individus	<i>Absence d'information</i>	Insectes
	Megadermatidae	Région tropicale et subtropicale de l'Ancien Monde Cavernicoles	De solitaire à coloniale allant jusqu'à quelques centaines d'individus Description de distanciation conspécifique	Une espèce décrite monogame Monoestrus saisonnier strict	Petits vertébrés et insectes
	Craseonycteridae	Région tropicale (Thaïlande et Birmanie) Grottes calcaires	Regroupement d'une centaine d'individus Distanciation conspécifique	1 portée de 1 petit par an	Insectes et araignées
	Rhinopomatidae	Région aride à semi-aride Cavernicoles et crevasses	Grégaire et vivant en colonies	Monoestrus saisonnier Fécondation différée	Insectes

		Hibernation			
Yangochiroptera	Emballonuridae	Région tropicale et subtropicale dans le monde entier Gîtes très variables, plus exposés que d'autres familles de chiroptères	Variable de solitaire à colonial Colonies allant jusqu'à 50 000 individus	Harem stable dans le temps Polyoestrus saisonnier fréquent mais monoestrus saisonnier et fécondation différée aussi selon localisation	Insectes
	Nycteridae	Région tropicale aride et forêt tropicale d'Afrique et Asie Gîtes très variables, occupation de terriers d'autres mammifères décrite	Solitaire à petits groupes familiaux	Peu de saisonnalité et donc synchronisation en zone aride 1 seul petit par portée	Insectes et rares espèces carnivores
	Phyllostomidae	Région néotropicale, de déserts à forêt tropicale Gîtes très variables Migration et hibernation pour un des genres de cette famille	Très variable selon les genres, de solitaires à colonies de plusieurs milliers d'individus	Pour la majorité polyoestrus non saisonnier, monoestrus saisonnier le plus au nord Fécondation différée et diapause embryonnaire décrites 1 seul petit par portée	Très variable, insectes, fruits, nectar, petits vertébrés et sang
	Mormoopidae	Région néotropicale, forêt tropicale et désert aride Principalement dans des grottes	Très grégaires, souvent en très grandes colonies	Monoestrus saisonnier 1 seul petit par portée	Insectes
	Noctilionidae	Région néotropicale Gîtes dans grottes, crevasses, troncs d'arbre et feuillage	Colonie de dizaines à centaines d'individus Chasse en petits groupes	Monoestrus saisonnier 1 seul petit par portée	Insectes et poissons
	Furipteridae	Région néotropicale, de forêt à désert aride Principalement grottes et habitations	Colonies d'une centaine d'individus	1 petit par portée en moyenne	Insectes
	Thyropteridae	Région néotropicale, forêt tropicale humide Sylvicoles	Solitaire ou petits groupes	Polyoestrus 1 petit par portée	Insectes
	Mystacinidae	Nouvelle-Zélande, Grottes Pas d'hibernation prolongée	Colonies de plusieurs centaines d'individus Chasse seul	Monoestrus saisonnier et polyoestrus non saisonnier 1 petit par portée Monogamie	Insectes, fruits, nectar, pollen
	Myzopodidae	Madagascar, forêt de palmiers Sylvicoles	<i>Absence d'information</i>	<i>Absence d'information</i>	Insectes
	Vespertilionidae	Répartition très étendue de région tempérée à tropicale,	Très variable, de solitaire à colonies de millions d'individus	Très variable, polygyne à monogame	Insectes

		sauf régions polaires Majorité cavernicoles, crevasses, mais aussi sylvicoles Hibernation selon environnement	ayant une organisation hiérarchique	Polyoestrus en région tropicale, sinon monooestrus Fécondation différée selon climat Plusieurs petits par portée	
	Cistugidae	Afrique du Sud, savane sèche et désert aride Gîtes dans des crevasses	Groupes d'une dizaine d'individus	<i>Absence d'information</i>	Insectes
	Miniopteridae	Région tropicale à subtropicale de l'Ancien Monde Forêt tropicale sèche à steppes arides Grottes et crevasses	Colonies jusqu'à plusieurs centaines de milliers d'individus Partage interspécifique décrit	Monooestrus saisonnier 1 petit par portée Fécondation différée et diapause embryonnaire observées	Insectes
	Molossidae	Aire de répartition très vaste, région tropicale, subtropicale à tempérée Principalement cavernicoles Migration décrite	Très variable, de solitaire à colonies de plusieurs millions d'individus	Monooestrus saisonnier et polyoestrus non saisonnier en région tropicale 1 petit par portée	Insectes
	Natalidae	Région néotropicale Cavernicoles	Très variable, de petits groupes d'une dizaine à plusieurs centaines d'individus	Monooestrus saisonnier avec fécondation 1 à 2 petits par portée	Insectes

Annexe 4. Virus infectant les mammifères détectés chez les chiroptères

Type de virus	Famille virale	Chiroptères hôtes (famille)	Source
ADN bicaténaire	Adenoviridae	Phyllostomidae, Hipposideridae, Molossidae, Pteropodidae, Rhinolophidae, Vespertilionidae	(Hayman 2016; Salmier et al. 2017; Prada et al. 2019; Wray et al. 2016; Hermida Lorenzo et al. 2021; Hu et al. 2017; Li et al. 2021; He et al. 2013; Hardmeier et al. 2021)
	Herpesviridae	Hipposideridae, Molossidae, Phyllostomidae, Pteropodidae, Rhinolophidae, Vespertilionidae	(Hayman 2016; Salmier et al. 2017; Dacheux et al. 2014; Wu et al. 2012; Wray et al. 2016; Hermida Lorenzo et al. 2021; Li et al. 2021)
	Papillomaviridae	Miniopteridae, Molossidae, Mystacinidae, Pteropodidae, Rhinolophidae, Vespertilionidae	(Hayman 2016; Salmier et al. 2017; Wu et al. 2012; Li et al. 2021; Wang et al. 2015)
	Polyomaviridae	Megadermatidae, Molossidae, Mormoopidae, Mystacinidae, Phyllostomidae, Pteropodidae, Rhinolophidae, Vespertilionidae	(Hayman 2016; Salmier et al. 2017; Dacheux et al. 2014; Li et al. 2021; Wang et al. 2015; Hardmeier et al. 2021)
	Poxviridae	Phyllostomidae, Pteropodidae, Vespertilionidae	(Hayman 2016; Salmier et al. 2017; Dacheux et al. 2014)
ARN bicaténaire	Reoviridae	Emballonuridae, Molossidae, Phyllostomidae, Pteropodidae, Rhinolophidae, Vespertilionidae	(Hayman 2016; Dacheux et al. 2014; Li et al. 2021; Hardmeier et al. 2021)
	Picobirnaviridae	Vespertilionidae	(Li et al. 2021)
ADN bicaténaire à rétrotranscription	Hepadnaviridae	Phyllostomidae, Rhinolophidae, Vespertilionidae	(Hayman 2016)
ARN monocaténaire à rétrotranscription	Retroviridae	Emballonuridae, Megadermatidae, Molossidae, Phyllostomidae, Pteropodidae, Rhinolophidae, Vespertilionidae	(Hayman 2016; Salmier et al. 2017; Dacheux et al. 2014; Wu et al. 2012; Hermida Lorenzo et al. 2021; Li et al. 2021; Franco Filho et al. 2019; Hardmeier et al. 2021)
ADN monocaténaire	Anelloviridae	Molossidae, Phyllostomidae, Vespertilionidae	(Hayman 2016; Salmier et al. 2017; Li et al. 2021)
	Circoviridae	Hipposideridae, Molossidae, Phyllostomidae, Pteropodidae, Rhinolophidae, Vespertilionidae	(Hayman 2016; Salmier et al. 2017; Wu et al. 2012; Hermida Lorenzo et al. 2021; Hu et al. 2017; Li et al. 2021; He et al. 2013; Hardmeier et al. 2021)
	Genomoviridae	Molossidae, Phyllostomidae, Rhinolophidae, Vespertilionidae	(Salmier et al. 2017; Hardmeier et al. 2021)
	Parvoviridae	Hipposideridae, Molossidae, Phyllostomidae, Pteropodidae, Rhinolophidae, Vespertilionidae	(Hayman 2016; Salmier et al. 2017; Wu et al. 2012; Hermida Lorenzo et al. 2021; Hu et al. 2017; Li et al. 2021; He et al. 2013; Hardmeier et al. 2021)
ARN monocaténaire à polarité négative	Bornaviridae	Molossidae, Vespertilionidae	(Hayman 2016; Hermida Lorenzo et al. 2021)
	Bunyaviridae	Emballonuridae, Molossidae, Nycteridae, Phyllostomidae, Pteropodidae, Rhinolophidae, Vespertilionidae, non déclarée	(Hayman 2016; Dacheux et al. 2014)
	Filoviridae	Pteropodidae, Rhinolophidae, Vespertilionidae	(Hayman 2016)
	Nairoviridae	Phyllostomidae, Molossidae, Vespertilionidae	(Salmier et al. 2017; Hardmeier et al. 2021)
	Orthomyxoviridae	Phyllostomidae	(Hayman 2016)
	Paramyxoviridae	Emballonuridae, Hipposideridae, Molossidae, Mormoopidae, Nycteridae, Phyllostomidae, Pteropodidae, Rhinolophidae, Vespertilionidae	(Hayman 2016; Prada et al. 2019; Hermida Lorenzo et al. 2021)

	Rhabdoviridae	Emballonuridae, Molossidae, Nycteridae, Phyllostomidae, Pteropodidae, Rhinolophidae, Vespertilionidae	(Hayman 2016; Wray et al. 2016)
ARN monocaténaire à polarité positive	Astroviridae	Emballonuridae, Miniopteridae, Molossidae, Phyllostomidae, Pteropodidae, Rhinolophidae, Vespertilionidae	(Hayman 2016; Salmier et al. 2017; Wu et al. 2012; Hermida Lorenzo et al. 2021; Hu et al. 2017; Li et al. 2021; He et al. 2013; Hardmeier et al. 2021)
	Caliciviridae	Mystacinidae, Rhinolophidae, Vespertilionidae	(Hayman 2016; Hu et al. 2017; Li et al. 2021; Wang et al. 2015; Hardmeier et al. 2021)
	Coronaviridae	Emballonuridae, Hipposideridae, Megadermatidae, Miniopteridae, Molossidae, Mormoopidae, Mystacinidae, Nycteridae, Phyllostomidae, Pteropodidae, Rhinolophidae, Rhinopomatidae, Vespertilionidae	(Hayman 2016; Prada et al. 2019; Wu et al. 2012; Maganga et al. 2014; Hu et al. 2017; Li et al. 2021; Hardmeier et al. 2021)
	Flaviviridae	Emballonuridae, Hipposideridae, Molossidae, Mormoopidae, Phyllostomidae, Pteropodidae, Rhinolophidae, Vespertilionidae	(Hayman 2016; Dacheux et al. 2014; Wu et al. 2012; Maganga et al. 2014; Hermida Lorenzo et al. 2021)
	Hepeviridae	Molossidae, Mystacinidae, Phyllostomidae, Vespertilionidae	(Hayman 2016; Salmier et al. 2017; Hardmeier et al. 2021)
	Picornaviridae	Miniopteridae, Molossidae, Pteropodidae, Rhinolophidae, Vespertilionidae	(Hayman 2016; Salmier et al. 2017; Wu et al. 2012; Hermida Lorenzo et al. 2021; Li et al. 2021)
	Togaviridae	Non rapportée	(Hayman 2016)

LE VIROME DES CHAUVES-SOURIS : DIVERSITE ET FACTEURS DE VARIATION

Les Chiroptères sont considérés comme un réservoir majeur de virus zoonotiques et potentiellement zoonotiques. Il est donc essentiel d'étudier leur virome et de comprendre les facteurs l'influençant.

Ce travail de synthèse bibliographique évoque d'abord la diversité des caractéristiques écologiques présentes dans l'ensemble des espèces de chiroptères et leur impact sur la richesse virale pour définir les paramètres semblant favoriser cette richesse. Après un rappel des méthodes d'analyse d'un virome et des biais liés à la technologie et au choix du type de prélèvement, une synthèse des facteurs de variation de la richesse virale observés dans la littérature est réalisée. Des paramètres propres à une espèce ou à une colonie sont décrits. Certains favorisent la richesse virale comme la taille, l'espérance de vie et le nombre de portées par an. D'autres l'influencent négativement comme l'altitude, la latitude, la proportion d'adultes et l'anthropisation du territoire.

Mots clés : CHIROPTERA, CHAUVES-SOURIS, VIROME, DIVERSITE VIRALE, FACTEURS DE VARIATION, ECOLOGIE, BIAIS

BAT VIROME : DIVERSITY AND DETERMINING FACTORS

Bats are considered principal reservoirs of zoonotic or potentially zoonotic viruses. Exploring their virome and understanding its determining factors is essential.

This literature review firstly describe the diversity of ecological characteristics in the overall bat species and their effect on viral richness in order to define traits which seems to help this richness. Then following a reminder of the analysis methods for virome and bias induced by technology and choice of the sampling type, the determining factors of viral richness found in the literature are summarized. Some of these factors are specific at the specie level, others are at the colony level. Whereas body size, longevity and number of litters per year are positively correlated with viral richness ; altitude, latitude, proportion of adults and disturbance of the environnement due to human activities have a negative impact on the viral diversity.

Key words : CHIROPTERA, BATS, VIROME, VIRAL DIVERSITY, DETERMINING FACTORS, ECOLOGY, BIAS