ACADEMIE DE CLERMONT-FERRAND

UNIVERSITE BLAISE PASCAL

THESE
Présentée à l'INRA de Clermont-Ferrand-Theix

Discipline : Ecologie
Ecole doctorale : Ecole Doctorale des Sciences de la Vie, Santé, Agronomie, Environnement

Modification du risque d'une maladie multi-hôtes suite à l'introduction d'une espèce réservoir : Cas de la maladie de Lyme et du tamia de Sibérie en Ile-de-France

Soutenue le 9 décembre 2011

par

Maud MARSOT

Jury

M. Christian AMBLARD	*Examinateur*	CNRS, Clermont-Ferrand
M. Roman BIEK	*Examinateur*	Université de Glasgow (Ecosse)
Mme Lise GERN	*Rapporteur*	Université de Neuchâtel (Suisse)
M. Patrick GIRAUDOUX	*Rapporteur*	Université de Franche-Comté, Besançon
Mme Gwenaël VOURC'H	*Directrice de thèse*	INRA, Clermont-Ferrand
M. Jean-Louis CHAPUIS	*Co-directeur de thèse*	MNHN, Paris

“On est obligé à présent de regarder l'imposant spectacle de l'évolution de la vie comme un ensemble d'événements extraordinairement improbables, impossibles à prédire et tout à fait non reproductibles.” Stephen Jay Gould, Extrait de *La Vie est belle*

REMERCIEMENTS

Je remercie en toute sincérité et de tout cœur l'ensemble des personnes qui m'ont entourée et aidée tout au long de cette thèse, au contact desquelles je me suis formée scientifiquement et j'ai grandi humainement. Je crois, et je suis même persuadée, qu'il est rare de se sentir aussi valorisée et en confiance pour travailler. J'espère vraiment que dans la suite de mes projets, je serai en contact avec des personnes aussi motivées, investies et pédagogues.

Un grand merci très chaleureux à Gwenaël. Tu m'as fait confiance, tu m'as permis d'évoluer et de m'approprier le sujet. Merci pour ton soutien, ta bienveillance à mon égard en toutes circonstances et pour avoir dialoguer avec moi comme une égale. J'admire tes choix au quotidien, qui prouvent autant tes qualités humaines que professionnelles. Tu m'as montré que la recherche est un travail de longue haleine, qui se construit petit à petit. Merci d'avoir cru en moi depuis le début. Tu es un exemple pour moi, toujours juste, honnête et prônant le respect.

Je remercie Jean-Louis pour son investissement sur le terrain sans faille, son hospitalité (ainsi que Geneviève qui m'a reçu tant de fois avec le sourire). L'ancien, comme il n'aime pas qu'on le nomme, mais qui signifie pour moi gage d'une grande expérience, qui m'a appris les ficelles du terrain, de son organisation à sa réalisation, qui m'a fait prendre conscience que la recherche est un métier de passion. Merci pour tous ces moments partagés à chaque passage à Paris, et surtout à Sénart ou à Chatenay. Quand tu veux pour un petit salé aux lentilles dans une yourte en ayant fait au préalable les courses à Lidl avec Ben, en passant par Tigery !! Sans oublier le magnifique snapshot, full of sh..!

Merci à Patrick pour ses conseils et discussions, qui m'ont fait réfléchir et avancer, pour m'avoir guidé tout au long de la thèse et fait partager son savoir en statistiques avec patience et pédagogie, même quand le temps était compté ! J'admire la passion et l'enthousiasme avec lesquels tu entreprends les choses !

Merci à Sébastien pour son travail au quotidien au laboratoire, pour m'avoir initié au laboratoire alors que je n'avais quasiment jamais touché une pipette, merci pour sa patience, sa rigueur et son souci du travail bien fait.

Un grand merci à Valérie, Thérèse II, pour sa grande disponibilité et serviabilité ainsi que son écoute, son soutien quotidien et surtout pour tous ces bons moments partagés. Je me souviendrai de Josiane Balasko, du pestacle et des sauts de cabri devant le bureau !!

Merci à Ben pour sa présence invariable sur le terrain, son aide concernant la biblio, notamment sur les espèces introduites et les parasites !! Merci à toi et à Anne pour le calcul des densités de tamias. J'ai vraiment adoré chaque semaine de terrain et tous les moments cultes qui vont avec et je ne peux m'empêcher de citer ici l'essayage de la tenue de cycliste ONF !! Grandes soirées et discussions enflammées sur tous les sujets !! Mémorable…

Merci beaucoup à Séverine, pour son aide avec tous mes problèmes en statistiques et pour son amitié. Et oui c'est pas évident tout ça (petit mouvement de main qui va avec) !!

Merci à Pierre-Yves pour son enthousiasme et son investissement dans le projet, son recul lors du comité de thèse et de toutes nos discussions, que ce soit sur l'article des oiseaux ou sur la thèse en général.

Merci à Loran pour son aide à chaque fois que j'en avais besoin que ce soit sur des stats, de l'anglais…, à Jocelyn pour ses installations et formatage de tout genre sur le PC, à Nelly pour son travail sur la Base de Données, à Françoise Rieu-Lesme pour m'avoir aidé dans l'identification des tiques au laboratoire, avoir partagé mon bureau, à Françoise Ondet pour sa disponibilité et son efficacité concernant les commandes et les déplacements à l'étranger, à Myriam pour ses réponses à mes questions de stats, à David pour toutes mes sollicitations sous R, à Mathieu pour son aide dans la confection de powerpoint "artistiques", à Alexandre pour la réalisation des cartes du manuscrit. Un grand merci à Sébastien, Valérie et Françoise pour avoir réalisé l'analyse des échantillons au laboratoire dans des délais on ne peut plus serrés !! Merci à l'ensemble de l'équipe d'Epidémiologie Animale pour son accueil chaleureux (pauses café que je vais regretter) et son soutien.

Merci à Elisabeth Ferquel, ainsi que l'ensemble de l'équipe du CNR Borrelia pour les collectes de tiques sur le terrain et l'analyse des tiques en Borrelia.

Merci à Guy Spagnol, ainsi qu'à Fabrice et Alice pour leur accueil à la Faisanderie. Merci spécial à Guy et ses incroyables péripéties, qui ont pimentées mes passages à Sénart.

Merci à Anne Dozières, Julie Marmet, Carole Lapeyre, Moana Grysan, Julien Laignel et Clare Prosser pour leur travail consciencieux sur le terrain.

Un grand merci aux membres du comité de thèse pour leur disponibilité et leurs conseils avisés.

Je remercie Lise Gern, Roman Biek, Christian Amblard, Patrick Giraudoux, Gwenaël et Jean-Louis d'avoir accepté de faire partie de mon jury.

Cette thèse a pu prendre forme grâce au soutien financier de la Région Ile-de-France, de l'INRA, du Muséum National d'Histoire Naturelle ainsi que de MERIAL. Je les en remercie.

Merci à Marie-Claude Rolland et Sylvia Sommer pour leurs critiques constructives quand à la rédaction d'articles, de résumés et de CV.

Merci à Gwenaël, Mathilde Paul, Céline Richomme, Corinne Lacquement, Laurent Crespin, Mathieu Gonnet et j'en oublie pour leur écoute et leurs conseils sur la difficile question de l'avenir…

Sans plagier grand corps malade, je remercie ma mère-veille et mon hors-père,
Ma mère pour son soutien au quotidien et pour avoir supporté mes états d'âmes et remises en question et avoir su m'orienter dans mes choix. Tu es mon repère au quotidien, je profite de cet espace pour à nouveau te le dire, notre lien est indéfectible, merci…
Mon père, qui m'a fait découvrir la fragilité de la nature humaine et qui sait résister et me montrer le chemin d'une vie faite de passions et de combats.
Mon frère avec qui j'ai partagé tant de choses, et qui est près de moi, même de loin.

Mes amis, ils se reconnaîtront, avec qui j'ai partagé des moments intenses tout au long de ces 3 ans.

Merci à celui qui m'accompagne, à celui qui a conquis mon cœur et qui fait de ma vie un grand bonheur.

A toi, femme de courage et de cœur, qui est partie comme tu as vécu sans faire de bruit, je te dédie cette thèse.

TABLE DES MATIERES

Liste des figures **4**
Liste des tableaux **6**
Liste des encadrés **7**
Avant-Propos **8**
Partie I : Introduction **9**
1. Maladies infectieuses zoonotiques émergentes, problème majeur de santé publique 11
2. Les espèces introduites modifient la circulation des agents pathogènes zoonotiques 21
3. Quantification du rôle d'espèces réservoirs dans la circulation d'agents pathogènes 28
4. Problématique 33

Partie II : Systèmes d'étude **35**
1. La maladie de Lyme 37
2. Le tamia de Sibérie 40
3. Les sites d'étude 47
4. Hôtes des tiques et hôtes réservoirs de *B. burgdorferi* sl en forêt de Sénart 51
5. Méthodes de collecte de données et d'analyse biologiques 53

Partie III : Evaluation de la compétence de réservoir du tamia de Sibérie pour *B. burgdorferi* sl par des données collectées en milieu naturel **61**
1. Caractéristiques à évaluer pour étudier la compétence de réservoir du tamia en milieu naturel 63
2. Infestation du tamia par les tiques *I. ricinus* (Annexe 1) 65
3. Infection des tamias par *B. burgdorferi* sl (Annexe 2) 71
4. Maintenance de *B. burgdorferi* sl par le tamia de Sibérie 79
5. Transmission de *B. burgdorferi* sl du tamia de Sibérie aux tiques 83

Partie IV : Quantification de la contribution relative du tamia de Sibérie au risque acarologique **87**
1. Calcul de contribution des rongeurs au risque acarologique 90
2. Comparaison des charges en tiques du tamia de Sibérie et des oiseaux (Annexe 3) 111
3. Comparaison des contributions estimées à partir de données de captures et à partir de l'analyse des repas sanguins 112
4. Modélisation de la contribution au risque acarologique 119

Partie V : Discussion générale **123**
1. Analyse critique des principales méthodes biologiques utilisées 125
2. Le tamia, un hôte plus infesté par les tiques et plus infecté par *B. burgdorferi* sl, que le principal réservoir rongeur natif 130
3. Le tamia de Sibérie semble contribuer fortement au risque acarologique 138
4. Comment améliorer le calcul d'indice de contribution ? 144

Partie VI : Conclusion générale **149**
Bibliographie **153**

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Nombre d'évènements de maladies émergentes infectieuses (EID) par décade. 12
Figure 2 : Principales causes ultimes et proximales impliquées dans l'émergence de maladies infectieuses. 15
Figure 3 : Etapes de passage d'un agent pathogène strictement animal à un agent pathogène strictement humain. 17
Figure 4 : Pourcentage d'agents pathogènes (a) de l'homme, (b) des animaux domestiques infectant divers catégorie d'hôtes..... 18
Figure 5 : Les notions de spillover, de spillback et d'effet dilution. 24
Figure 6 : Systèmes épidémiologiques incluant des populations réservoirs et des populations cibles..... 28
Figure 7 : Schéma récapitulatif des notions de compétence et de capacité de réservoir. 32
Figure 8 : Distribution géographique des principales espèces de tiques vectrices de la maladie de Lyme. 37
Figure 9 : Cycle de vie des tiques *I. ricinus* associé à celui de *B. burgdorferi* sl. 38
Figure 10 : Distribution géographique des principales espèces de *B. burgdorferi* sl. 39
Figure 11 : Distribution du tamia de Sibérie sur son aire d'origine. 41
Figure 12 : Répartition des onze populations de Tamia de Sibérie établies en France. 42
Figure 13 : Biologie de la reproduction du Tamia de Sibérie..... 46
Figure 14 : Localisation de la Forêt de Sénart en Europe et en France. 48
Figure 15 : Localisation des différents sites d'étude en Forêt de Sénart. 49
Figure 16 : Principe de l'analyse de repas sanguins chez les nymphes en quête d'hôtes. 55
Figure 17: Plan de répartition des 104 pièges Sherman dans le Parc de la Faisanderie. 56
Figure 18 : Caractéristiques de la compétence du tamia de Sibérie pour *B. burgdorferi* sl évaluées en milieu naturel. 64
Figure 19 : Variations mensuelles des densités moyennes de tiques *I. ricinus* à l'affût et comptages moyens de tiques *I. ricinus* des tamias..... 70
Figure 20 : Variations mensuelles des comptages moyens de tiques pour les campagnols roussâtres. 71
Figure 21 : Variation temporelle des pourcentages estimés d'infection par *B. burgdorferi* sl pour le tamia de Sibérie et le campagnol roussâtre. 78
Figure 22 : Pourcentages estimés d'infection par *B. burgdorferi* sl pour les rongeurs jeunes et adultes. 78
Figure 23 : Densités estimées de tamias de Sibérie, de campagnols roussâtres et de mulots sylvestres pour les périodes A à D en 2007 (Faisanderie). 94
Figure 24 : Charges estimées en larves pour le tamia de Sibérie, le campagnol roussâtre et le mulot sylvestre pour les périodes A à D en 2007 (Faisanderie)..... 95
Figure 25 : Prévalences estimées d'infection du tamia de Sibérie, du campagnol roussâtre et du mulot sylvestre aux périodes A à D en 2007 (Faisanderie). 96
Figure 26 : Nombre estimé de nymphes infectées produites par période en 2007 par le tamia de Sibérie, le campagnol roussâtre et le mulot sylvestre (Faisanderie). 97

Figure 27 : Poids des paramètres du calcul de contribution pour le tamia de Sibérie, le campagnol roussâtre et le mulot sylvestre en 2007 (Faisanderie). 97
Figure 28 : Densités estimées (a) de la population de tamias de Sibérie, (b) des tamias de Sibérie suivant la classe d'âge pour les périodes A à D entre 2007 et 2010 (Faisanderie). 99
Figure 29 : Charges estimées en larves (a) de la population de tamias de Sibérie, (b) des tamias de Sibérie suivant la classe d'âge pour les périodes A à D entre 2007 et 2010 (Faisanderie). 101
Figure 30 : Prévalences estimées d'infection (a) de la population de tamias de Sibérie (b) des tamias de Sibérie suivant la classe d'âge entre 2007 et 2010 aux périodes A à D (Faisanderie). 103
Figure 31 : Nombre estimé de nymphes infectées produites/ha par période entre 2007 et 2010 pour (a) la population de tamias de Sibérie, (b) les tamias de Sibérie suivant la classe d'âge (Faisanderie). 105
Figure 32 : Poids des paramètres du calcul de contribution pour le tamia de Sibérie entre 2007 et 2010 (Faisanderie). 106
Figure 33 : Poids des paramètres du calcul de contribution pour le tamia de Sibérie entre les périodes (toutes années - de 2007 à 2010- confondues, Faisanderie). 106
Figure 34 : Densités estimées du tamia de Sibérie, du campagnol roussâtre et du mulot sylvestre sur les sites avec et sans tamias (avril 2008). 108
Figure 35 : Charges estimées en larves du tamia de Sibérie, du campagnol roussâtre et du mulot sylvestre sur les sites avec et sans tamias (avril 2008). 108
Figure 36 : Prévalences estimées d'infection des tamias de Sibérie, campagnols roussâtres et mulots sylvestres sur les sites avec et sans tamias (avril 2008). 109
Figure 37 : Nombre estimé de nymphes infectées produites par les tamias de Sibérie, les campagnols roussâtres et les mulots sylvestres sur les sites avec et sans tamias (avril 2008). 110
Figure 38 : Poids des paramètres du calcul de l'indice de contribution pour le tamia, le campagnol et le mulot en 2008 sur les sites avec tamias. 110
Figure 39 : Boîte à moustaches du nombre de tiques par espèce d'oiseaux. 112
Figure 40 : Schéma illustrant le nombre de nymphes collectées et analysées par la méthode d'identification de repas sanguins. 115
Figure 41 : Proportion de nymphes à l'affût produites par le tamia de Sibérie, le campagnol roussâtre et le mulot sylvestre (2007, Faisanderie). 116
Figure 42 : Proportion de nymphes à l'affût produites par la population de tamias de Sibérie entre 2007 et 2010 (Faisanderie). 117
Figure 43 : Schéma du modèle de variation de la densité de nymphes à l'affût sur la végétation. 120
Figure 44 : Variation temporelle de la densité de nymphes à l'affût à la Faisanderie entre 2005 et 2010. 122

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Récapitulatif des données disponibles par site d'étude et par année pour le tamia de Sibérie, le campagnol roussâtre, le mulot sylvestre et les oiseaux. 60
Tableau 2 : Pourcentages estimés et intervalles de confiance des probabilités d'infection par *B. burgdorferi* sl pour les nymphes à l'affût, les campagnols et les tamias analysés entre 2006 et 2008. 77
Tableau 3 : Statut d'infection en *B. burgdorferi* sl des tamias adultes au printemps et en automne. 81
Tableau 4 : Statut d'infection en *B. burgdorferi* sl des jeunes tamias de première cohorte à la sortie du terrier et dans leur année de naissance. 82
Tableau 5 : Cinq scénarios de suivi du statut d'infection des tamias au cours de leur vie. 82
Tableau 6 : Résultats concernant le statut d'infection des larves gorgées collectées sur le tamia de Sibérie. 85
Tableau 7 : Effectifs de tamias de Sibérie, de campagnols roussâtres et de mulots sylvestres capturés à la Faisanderie en 2007 entre les périodes A et D. 94
Tableau 8 : Effectifs de tamias de Sibérie capturés à la Faisanderie entre 2007 et 2010 suivant les périodes et les classes d'âges (adultes J1 et J2). 98
Tableau 9 : Effectifs de tamias de Sibérie, de campagnols roussâtres et de mulots sylvestres capturés sur les sites avec et sans tamias (avril 2008)..... 107
Tableau 10 : Nombre de repas associés au tamia de Sibérie, au campagnol roussâtre et au mulot sylvestre pour les sites avec et sans tamias entre avril et juin 2008. 118
Tableau 11 : Nombre de repas identifiés par la méthode d'analyse de repas sanguins et détail des vertébrés concernés à la Faisanderie en 2007, et entre 2007 et 2010 et sur les sites avec et sans tamias en 2008. 118
Tableau 12 : Effectifs et pourcentages de nymphes s'étant nourries sur le tamia de Sibérie, les grands, moyens, petits mammifères, les oiseaux et les lézards (Faisanderie et sites avec et sans tamias). 119

LISTE DES ENCADRES

Encadré 1 : Les écureuils introduits en Europe…….....27
Encadré 2 : Biologie et écologie du campagnol roussâtre (*Myodes glareolus*)……....49
Encadré 3 : Biologie et écologie du mulot sylvestre (*Apodemus sylvaticus*)……50

AVANT-PROPOS

Le manuscrit de thèse est organisé en six parties. La première partie présente le contexte dans lequel se situe la problématique de la thèse et la deuxième partie les systèmes biologiques étudiés ainsi que les principales méthodologies. Les troisième et quatrième parties présentent l'ensemble des résultats associés au travail de thèse. Le manuscrit se termine par une cinquième partie de discussion générale et une sixième partie de conclusion.

Les articles issus de la thèse sont présentés en annexes, car j'ai souhaité que la thèse puisse se lire d'un seul tenant sans intercaler d'articles. Aussi, la méthodologie et les résultats associés aux articles ne sont que synthétisés dans le manuscrit. Les détails sont présentés dans les articles.

La thèse a fait l'objet de deux articles publiés : Pisanu et collaborateurs (2010) (Annexe 1) et Marsot et collaborateurs (2011) (Annexe 2). Un article est en préparation (Annexe 3) concernant les charges en tiques des oiseaux en Forêt de Sénart. La partie 4 de cette thèse fera l'objet d'un article, qui est à rédiger.

PARTIE I : INTRODUCTION

Les maladies infectieuses sont une des causes les plus importantes de morbidité chez l'homme et l'animal avec des conséquences à la fois économiques, sanitaires et écologiques (Cleaveland 2001). Les modifications de grande ampleur que subit actuellement notre planète (changement climatique, modification de l'utilisation des terres etc.) bouleversent les risques associés à ces maladies. Au cours de ma thèse, je me suis intéressée à un volet de ces modifications, à savoir l'effet de l'introduction d'une espèce sur la circulation d'un agent pathogène, infectant plusieurs espèces animales et se transmettant à l'homme par les tiques, *Borrelia burgdorferi* sensu lato (sl), agent de la maladie de Lyme. Dans cette introduction, je présenterai, dans un premier temps, quelles caractéristiques des agents pathogènes se transmettant entre l'homme et l'animal (agents zoonotiques) expliquent leur caractère émergent. Puis, nous verrons comment une introduction d'espèce peut modifier la circulation d'agents pathogènes zoonotiques. Je terminerai, après avoir défini la notion d'hôte réservoir, par présenter les méthodes de quantification du rôle de plusieurs espèces réservoirs dans la circulation d'agents pathogènes, notamment dans le cas de maladies vectorielles.

1. MALADIES INFECTIEUSES ZOONOTIQUES EMERGENTES, PROBLEME MAJEUR DE SANTE PUBLIQUE

1.1. Enjeux des maladies infectieuses émergentes

Une maladie émergente est généralement considérée comme une « maladie dont l'incidence augmente dans un espace-temps donné de façon anormale, du fait que la maladie est nouvelle (ex. : Encéphalopathie Spongiforme Bovine, ESB) ou, pour une maladie connue, du fait de modalités d'évolution différentes, comme l'adaptation à un nouvel hôte, à une nouvelle aire de répartition (ex. : fièvre catarrhale du mouton, fièvre du West Nile), ou à l'augmentation de la gravité des symptômes (ex. : influenza aviaire H5N1) » (Vourc'h 2010). Entre 1940 et 2000, Jones et collaborateurs (2008) estiment à 335 le nombre de maladies infectieuses ayant émergé dans la population humaine ; le nombre d'émergence ayant une nette tendance à augmenter au cours de ces décennies (Figure 1). L'émergence de ces maladies infectieuses soulève des enjeux de plusieurs ordres, dont nous allons parler en les illustrant par quelques exemples.

Les maladies infectieuses émergentes peuvent avoir un impact économique important. On estime par exemple que les mesures de contrôle et de restriction commerciale mises en place en raison de l'épidémie d'ESB en Grande-Bretagne ont coûté plus de 740 millions de livres en 1997 (McDonald and Roberts 1998). De même, les apparitions répétées des virus d'Influenza Aviaire

Hautement Pathogènes ont entrainé la destruction massive de volailles dans plusieurs pays, conduisant à des pertes économiques notables pour des pays dépendants de cette production. Ainsi, pour les pays exportateurs, les pertes économiques associées à une épidémie d'Influenza sont comprises entre 65 et 400 millions de dollars US (McLeod and Guerne-Bleich 2006). Les maladies infectieuses émergentes peuvent provoquer de profonds changements dans l'organisation sanitaire des pays. Ce fut le cas de l'épidémie de SIDA, dans les pays en voie de développement, ou encore de celle du SRAS (Syndrome Respiratoire Aigu Sévère), en Asie (Sansone et al. 1989, Cao et al. 2010).

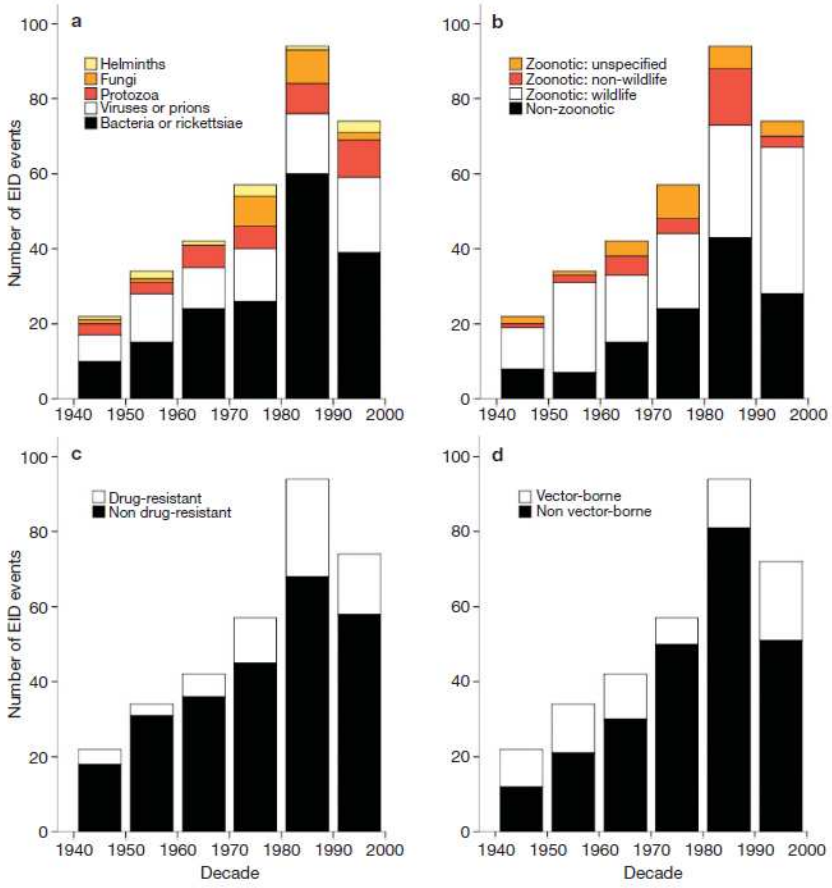


Figure 1 : Nombre d'évènements de maladies émergentes infectieuses (EID) par décade.
Les évènements sont classés suivant (a) le type d'agent pathogène, (b) le type de transmission, (c) la résistance aux médicaments et (d) le mode de transmission (Jones et al. 2008).

Les enjeux écologiques associés à l'émergence de maladies infectieuses concernent principalement le lien entre la biodiversité et la dynamique des maladies. Intuitivement, une plus grande biodiversité devrait conduire à une plus grande diversité d'agents pathogènes et d'hôtes, et ainsi augmenter l'incidence des maladies infectieuses (Dunn et al. 2010). Cependant, la régulation des maladies est considérée comme étant un des services rendus par la biodiversité, car une forte

diversité d'espèces est susceptible de limiter le risque de transmission (MEA 2005, Walpole et al. 2009). Certaines études ont montré qu'une diminution de la richesse spécifique d'une communauté, suite à la perturbation d'habitats favoriserait des espèces opportunistes, très compétentes en tant que réservoirs d'agents pathogènes ou en tant que vecteurs (Mills 2006, Vittor et al. 2006, Molyneux et al. 2008). Par exemple, plusieurs espèces de muridés, réservoirs des virus de fièvres hémorragiques, sont des espèces opportunistes favorisées dans les environnements perturbés. Il semble que le risque de fièvres hémorragiques pour l'homme soit ainsi plus faible dans les environnements riches en espèces que dans les environnements perturbés. Cependant, nous ne savons pas si ce genre d'observation est généralisable, en d'autres termes, si les traits d'histoire de vie (taille de la population, stratégie de reproduction etc.) qui caractérisent les espèces opportunistes (c'est-à-dire dominantes dans les environnements perturbés pauvres en espèces) favorisent aussi la transmission d'agents pathogènes. La récente accélération de perte de biodiversité due aux activités humaines est donc susceptible de modifier profondément les dynamiques hôtes-agents pathogènes (Giraudoux et al. 2008). Cependant, ces dynamiques sont très complexes et difficiles à étudier, car nous manquons de connaissances précises sur la diversité des agents pathogènes et les interactions entre hôtes et agents pathogènes, qui interviennent à différentes échelles (Lloyd-Smith et al. 2009).

1.2. Conditions d'émergence des maladies infectieuses

L'émergence d'une maladie infectieuse est en général la résultante de modifications, qui peuvent intervenir en cascade à différents niveaux : au niveau des agents pathogènes, des hôtes, des modes de transmission et de l'environnement. Les agents pathogènes sont des organismes qui évoluent vite, avec un temps de génération souvent bien plus court que celui de leurs hôtes. Ils peuvent donc s'adapter rapidement aux pressions de sélection exercées par les hôtes. Ces évolutions peuvent modifier des caractéristiques clés pouvant favoriser l'émergence de maladies, telles que la virulence, la résistance contre les traitements, l'adaptation à de nouvelles espèces (Osnas and Dobson , Reluga et al. 2007). La grippe espagnole, par exemple, due à une souche particulièrement virulente et contagieuse de grippe A (H1N1), se serait adaptée à une nouvelle espèce hôte, l'homme, avec en conséquence 30 à 50 millions de morts dans le monde (Tumpey et al. 2005).

La modification de la réponse des hôtes aux agents pathogènes peut favoriser l'émergence de maladies. Les hôtes peuvent devenir plus sensibles à une infection du fait d'une baisse d'immunité, due au stress, à la malnutrition ou à des infections déjà présentes. Par exemple, l'épidémie de peste, causée par la bactérie *Yersinia pestis* et véhiculée principalement par les rats, s'est propagée en Europe au sein de populations qui n'avaient pas d'anticorps contre ce bacille et

qui étaient déjà affaiblies par des famines répétées, d'autres épidémies et des guerres (Haensch et al. 2010).

Par ailleurs, l'augmentation de densité ou d'abondance des populations (Courtin et al. 2009), comme c'est le cas dans les élevages intensifs ou dans les villes densément peuplées, favorise la transmission de pathogènes en modifiant le taux de contact entre individus et en augmentant les tailles des populations d'agents pathogènes. Les introductions de vecteurs sont les cas extrêmes de modification de contact hôtes-agents pathogènes, puisque leur présence permet la transmission indirecte d'agents pathogènes. L'introduction en 1826 à Hawaï du moustique *Culex quiquefasciatus* a permis la transmission du paludisme aviaire, ce qui a entraîné une forte mortalité des oiseaux endémiques de cette île (Atkinson and LaPointe 2009).

L'ensemble des acteurs du système hôte-agent pathogène interagit dans un environnement avec d'autres organismes. Les modifications de cet environnement, tel que les modifications de paysage ou l'intensification des systèmes de production animale (densification notamment), peuvent favoriser l'émergence de maladies en agissant sur les interactions entre les éléments décrits dans les paragraphes précédents. À l'échelle de la planète, les changements globaux, tel que le changement climatique et l'augmentation des échanges, entraînent des répercussions sur l'ensemble des composants et structures du système. De nouvelles maladies vectorielles pourraient émerger à la faveur d'un changement climatique, qui modifierait l'aire de répartition des vecteurs et donc celle des agents pathogènes qu'ils transmettent (Courtin et al. 2009). A l'heure actuelle, un des risques préoccupant concerne l'extension de l'aire de répartition de l'espèce de tique *Hyalomma marginatum*, déjà présente dans le sud de la France, du fait que cette tique transmet le virus de Congo-Crimée (Sylla et al. 2008). De façon plus fine, les changements climatiques peuvent aussi modifier les génotypes dominants d'agents pathogènes. Par exemple, Gatewood et collaborateurs (2009) ont montré, aux Etats-Unis, que la synchronie de l'activité larves et des nymphes *Ixodes scapularis* était liée à des paramètres climatiques. Or dans les sites où les larves et les nymphes n'étaient pas synchrones, les génotypes RST1 de *B. burgdorferi* sensu stricto, associés à une plus grande diversité et sévérité de symptômes cliniques que les autres génotypes RST2 et RST3 (Jones et al. 2006, Terekhova et al. 2006), étaient plus prévalents.

Les différents éléments présentés peuvent être classés en causes proximales (impliquant l'agent pathogène, les populations réservoirs et cibles, et influençant directement les processus d'émergence de maladies) et en causes ultimes, à l'origine des modifications (Figure 2) (Reperant

2010). Comprendre les mécanismes d'action des causes ultimes sur l'émergence de maladies est complexe, puisqu'il faut intégrer plusieurs échelles imbriquées.

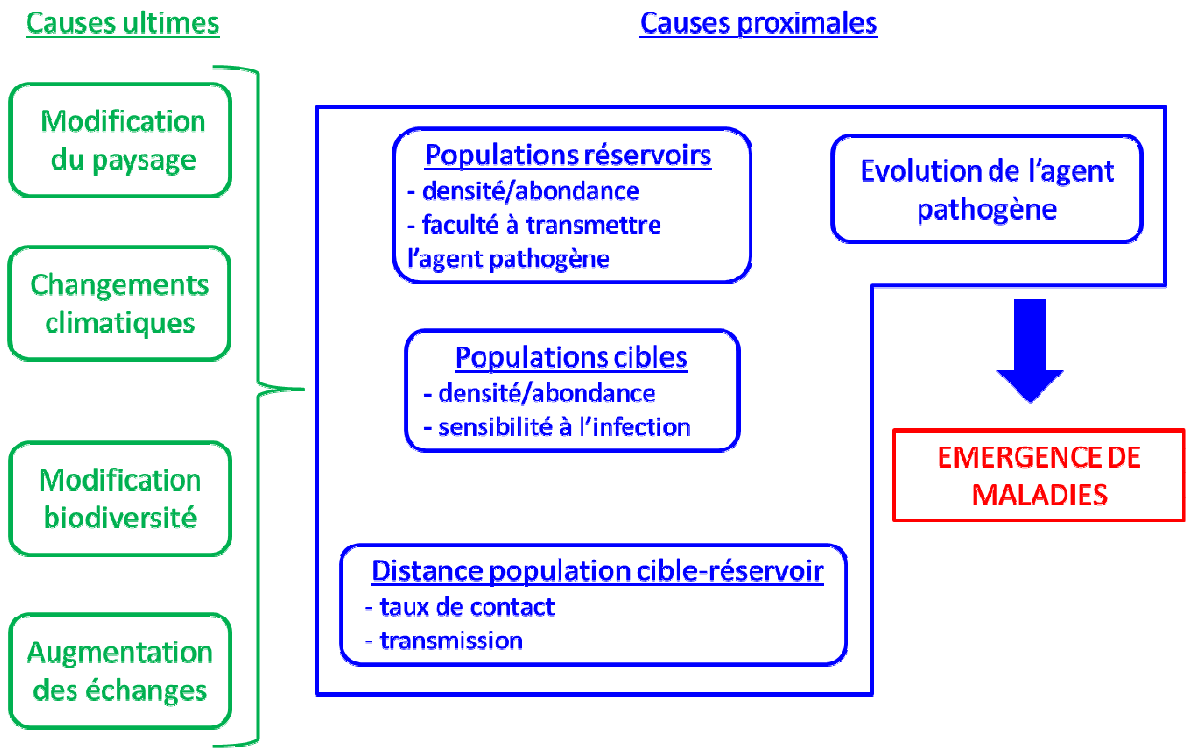


Figure 2 : Principales causes ultimes et proximales impliquées dans l'émergence de maladies infectieuses.

Identifier les causes d'une maladie émergente soulève donc des questions relatives à la compréhension de phénomènes complexes, souvent multifactoriels. Des études récentes sur l'écologie des virus associés aux chauves-souris frugivores ont montré que des causes multiples peuvent agir de concert pour aboutir à l'émergence du virus Hendra en Australie. Les populations de chauves-souris se sont "urbanisées" en réponse au déclin des habitats et à l'augmentation de l'abondance des arbres à fleurs dans les aires urbaines (Markus and Hall 2004, McDonald-Madden et al. 2005). Cette situation a favorisé le contact entre chauves-souris et chevaux et ainsi, potentiellement, la transmission du virus de la chauve-souris aux chevaux, puis à l'homme (Plowright 2007). Il est donc important de considérer les multiples causes dans l'émergence de maladies. Ceci est très difficile à prendre en compte, car beaucoup d'études concernant les maladies émergentes ont lieu dans un contexte de crise. A défaut de pouvoir comprendre l'ensemble du système, un objectif plus réaliste est de récolter un faisceau d'éléments de convergence suffisants, permettant d'identifier des causes écologiques (ou comportementales, sociologiques ou économiques) de l'émergence de maladies, afin de comprendre les principaux mécanismes en jeu

pour ensuite informer les structures de prévention et de gestion des évènements de maladies émergentes.

1.3. Caractéristiques des agents pathogènes favorisant l'émergence

D'après Jones et collaborateurs (2008), la majorité des évènements de maladies infectieuses émergentes sont dues à des agents pathogènes zoonotiques (Figure 1). La nature zoonotique d'un agent pathogène peut être décrite suivant différents stades qui illustrent les diverses possibilités de passage d'un agent pathogène strictement animal à un agent pathogène strictement humain (Wolfe et al. 2007) (Figure 3) :

(1) L'agent pathogène est présent uniquement chez les animaux et n'a pas été détecté chez l'homme dans les conditions naturelles. C'est le cas de la plupart des malarias dues à *Plasmodium* spp, qui tendent à être spécifiques à une espèce d'hôtes ou à des groupes d'espèces proches phylogénétiquement.

(2) L'agent pathogène animal est transmis, dans des conditions naturelles, de l'animal à l'homme (infection primaire), mais n'est pas transmis entre humains (transmission secondaire). C'est le cas des bacilles de l'anthrax, de la tularémie ou des virus Nipah, de la rage et du West Nile.

(3) Les agents pathogènes animaux peuvent effectuer quelques cycles de transmission secondaire entre hommes (virus Ebola ou Marburg).

(4) Les agents pathogènes sont présents chez les animaux et ont des cycles d'infection chez l'homme par transmission primaire, mais les séquences de transmission secondaires chez l'homme sans l'implication des hôtes animaux sont longues. C'est le cas de agents de la maladie de Chagas, de la dengue, du virus de l'influenza A ou encore des bactéries responsables du choléra.

(5) L'agent pathogène, à l'origine présent chez l'animal, est exclusivement humain. Il n'y a plus de lien entre les cycles humains et animaux. Les agents pathogènes ont pu être restreints à l'espèce humaine de deux manières : une spéciation très ancienne d'un agent pathogène ancestral présent dans l'ancêtre commun de l'homme et de l'animal (le chimpanzé pour le cas du VIH) ou une colonisation plus récente d'un pathogène animal chez l'homme, qui a évolué en pathogène spécialisé à l'homme (pour le cas des agents responsables de la malaria à *Plasmodium falciparum*).

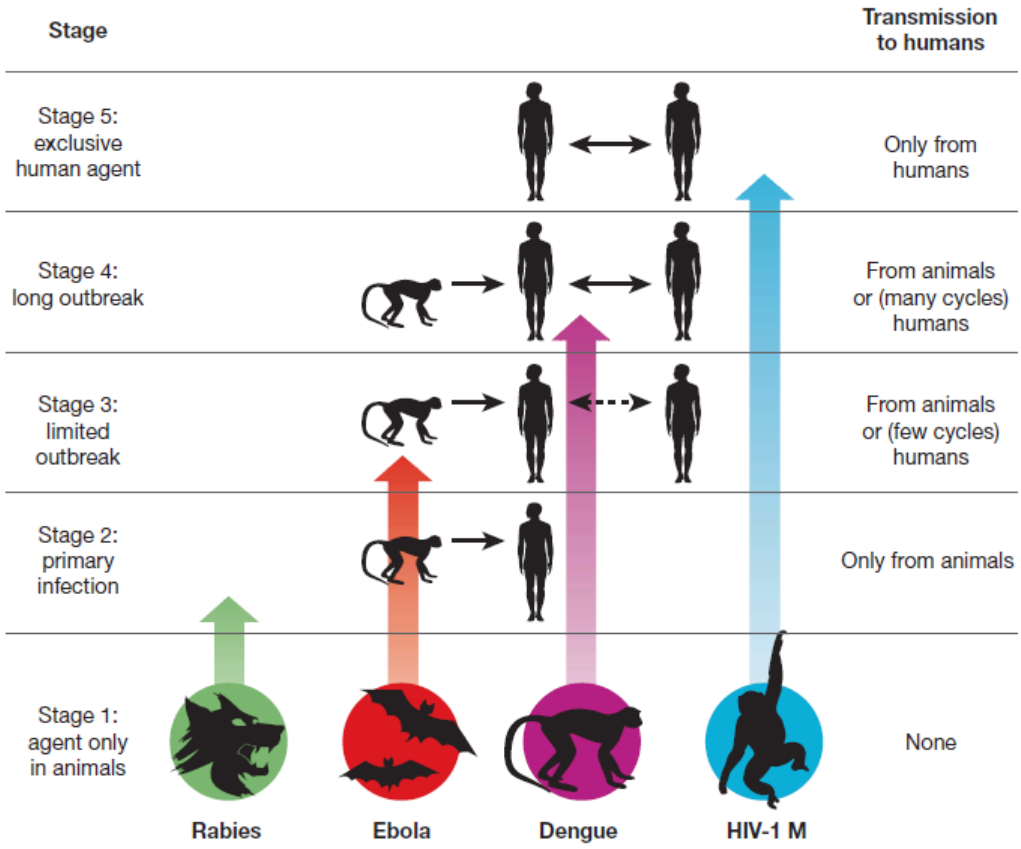


Figure 3 : Etapes de passage d'un agent pathogène strictement animal à un agent pathogène strictement humain.
Schéma issu de Wolfe et collaborateurs (2007).

Ce type de classification peut plus généralement s'appliquer au passage d'un agent pathogène d'une espèce d'hôte à une autre, que l'homme soit impliqué ou non.

1.3.1. Caractère multi-hôtes des agents pathogènes et des vecteurs

Les agents pathogènes pouvant infecter plus d'une espèce hôte (dits "multi-hôtes") sont plus nombreux et plus impliqués dans les maladies émergentes que les agents pathogènes n'infectant qu'une seule espèce (Figure 4). En effet, 62 % des agents pathogènes touchant l'homme, 77 % de ceux infectant le bétail et 90 % de ceux des animaux domestiques sont des agents pathogènes multi-hôtes (Cleaveland 2001). Or, jusqu'à récemment, l'avancement des connaissances tant en épidémiologie, qu'en infectiologie, se sont surtout intéressées à des systèmes hôte unique - agent pathogène unique (Anderson and May 1991, Stearns and Koella 1999). Nous assistons cependant à un changement de paradigme vers l'étude de communautés d'hôtes et de communautés d'agents pathogènes (Collinge and Ray 2006, Telfer et al. 2008), paradigme qui cherche à prendre

explicitement en compte les interactions entre plusieurs hôtes et plusieurs agents pathogènes dans l'étude des dynamiques de maladies.

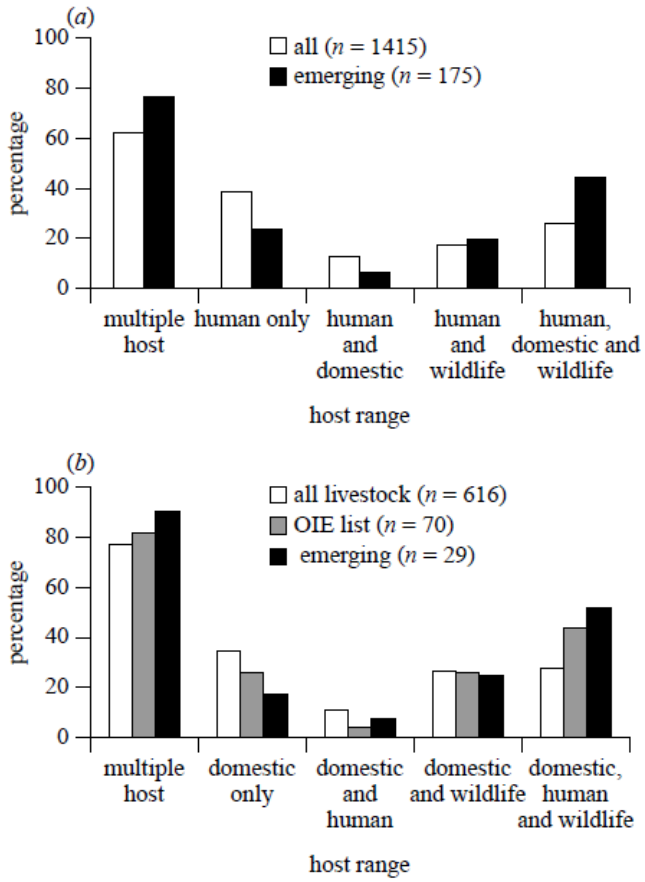


Figure 4 : Pourcentage d'agents pathogènes (a) de l'homme, (b) des animaux domestiques infectant divers catégorie d'hôtes.
OIE list = Maladies des (anciennes) listes A et B de l'Office International des Epizootie (Organisation Mondiale de la Santé Animale) correspondant aux maladies touchant les animaux domestiques et ayant un impact économique potentiellement important. Issu de Cleaveland et collaborateurs (2001).

En écologie, les espèces (agents pathogènes ou vecteurs) infectant plusieurs espèces hôtes sont considérées comme des généralistes, en comparaison avec les spécialistes d'un seul hôte. Un des enjeux en biologie évolutive est de comprendre les processus, qui maintiennent cette diversité d'exploitation des hôtes. En effet, l'évolution devrait favoriser les spécialistes pour deux raisons principales (Whitlock 1996). Tout d'abord, ces espèces devraient pouvoir évoluer plus rapidement du fait de leur niche écologique restreinte. Ensuite, l'existence de compromis (trade-offs) fonctionnels entre les traits qui permettent l'adaptation à plusieurs espèces et ceux qui favorisent la survie ou la reproduction, devrait réduire la valeur sélective (fitness) des espèces infectant plusieurs hôtes. Comprendre pourquoi les agents pathogènes multi-hôtes sont majoritaires et comment cette

capacité à infecter plusieurs hôtes influence l'évolution de la virulence de ces pathogènes et l'épidémiologie des maladies qu'ils provoquent restent des questions ouvertes (Begon 2008).

Un agent pathogène multi-hôtes a la capacité d'exploiter des espèces hôtes différentes en contournant la barrière d'espèce (Woolhouse 2001). Le mode de transmission (direct ou indirect *via* des vecteurs) détermine les différentes opportunités d'un agent pathogène à entrer en contact et à infecter les hôtes. Par exemple, la transmission directe par contact sexuel fournit peu d'opportunités aux agents pathogènes d'infecter plusieurs espèces. En revanche, la transmission directe, impliquant la contamination de l'environnement, permet aux agents pathogènes de rencontrer les différentes espèces présentes dans l'environnement. Pour les agents pathogènes transmis par des vecteurs généralistes, qui représentent la majorité des arthropodes hématophages (Kettle 1995), la combinaison de la préférence trophique, des patrons de dispersion du vecteur et de l'abondance des hôtes détermine les opportunités de transmission interspécifique (Hide et al. 1996, Woolhouse et al. 1997).

Des travaux théoriques, en laboratoire ou en milieu naturel, montrent que les agents pathogènes infectant une seule espèce hôte devraient évoluer jusqu'à un niveau de virulence optimal, déterminé par le compromis entre virulence et transmissibilité (Ewald 1996). Pour les agents pathogènes multi-hôtes, la situation est beaucoup plus complexe. Suivant le lien entre transmission et virulence au sein et entre hôtes, l'agent pathogène peut être plus ou moins virulent chez les différents hôtes. L'introduction d'un nouvel hôte peut ainsi conduire à une augmentation ou une baisse de la virulence chez les autres hôtes (Woolhouse 2001). La théorie ne suggère pas de règle simple pour savoir si des agents pathogènes multi-hôtes vont être plus ou moins virulents que des agents pathogènes à hôte unique. Il y a des exemples d'agents pathogènes humains présentant toutes les combinaisons possibles de forte ou faible virulence, que ce soit des associations récentes ou anciennes ou des agents pathogènes multi-hôtes ou non.

Il est probable que les agents pathogènes multi-hôtes soient moins sujets aux extinctions, car leur survie ne dépend pas uniquement d'une seule espèce hôte (Timms and Read 1999). En effet, le fait qu'un agent pathogène puisse être véhiculé par plusieurs hôtes facilite sa transmission et sa dissémination (Cleaveland 2001). Des agents pathogènes infectant un seul hôte doivent être, par définition, capables de persister au sein de leur hôte. Au contraire, les agents pathogènes multi-hôtes peuvent infecter des hôtes dans lesquels ils ne vont pas persister, comme pour *Escherichia coli* O157 chez l'homme. De tels agents pathogènes peuvent avoir comme réservoir un ensemble de

populations hôtes, qui permettent leur persistance (Ashford 1997). Les processus épidémiologiques et évolutifs qui déterminent si un agent pathogène va déclencher au sein d'une population d'hôtes alternatifs des infections sporadiques (comme la rage chez l'homme) ou des épidémies (comme la grippe aviaire ou encore le virus Ebola chez l'homme) sont peu compris mais ont une importance cruciale, notamment dans le contexte des maladies émergentes.

1.3.2. Intérêt grandissant pour l'implication de la faune sauvage

Les évènements de maladies infectieuses émergentes entre 1940 et 2000 sont causés à 72 % par des agents zoonotiques issus de la faune sauvage (Jones et al. 2008). Les exemples les plus emblématiques étant l'émergence du virus Nipah en Malaisie et du SRAS en Chine (Field et al. 2007). Cependant, peu d'agents pathogènes de la faune sauvage sont connus par rapport aux agents pathogènes touchant l'homme et les animaux domestiques. Au cours de leur étude bibliographique, Taylor et collaborateurs (2001) et Cleaveland et collaborateurs (2001) ont répertorié 1 415 agents infectieux chez l'homme, contre 990 chez le bétail et les carnivores domestiques ; aucun chiffre n'étant avancé pour la faune sauvage. La probabilité de découvrir un nouvel agent pathogène, ou une nouvelle maladie chez l'animal et dans la faune sauvage en particulier, est donc importante, cette découverte ne signifiant pas néanmoins que la maladie n'existait pas auparavant. Par exemple, un inventaire réalisé en République centrafricaine a permis d'identifier 39 nouveaux virus, dont 11 chez les oiseaux (Saluzzo et al. 2004).

La proximité grandissante entre les espèces domestiques, les espèces sauvages et l'homme, notamment, suite à la pénétration des hommes toujours plus en avant dans les habitats de la faune sauvage, favorise le contact entre les espèces sauvages, domestiques et l'homme, offrant aux agents pathogènes des conditions de propagation favorables et facilitant le franchissement de la barrière d'espèce (Bengis et al. 2004, Chomel et al. 2007). Des virus comme Ebola ou le VIH, encore inconnus chez l'homme il y a quelques décennies, ont profité de la promiscuité nouvelle entre les espèces sauvages et l'homme pour émerger. Ceci est particulièrement problématique dans les communautés rurales, dépendantes de la production de leurs troupeaux. Par exemple, en Afrique de l'est, des éleveurs nomades souffrent de sérieuses pertes suite à la transmission de la fièvre catarrhale maligne des gnous au bétail, lié au contact accru entre ces animaux. Eviter les contacts entre gnous et troupeaux réduirait l'accès au pâturage du bétail, conduisant à une diminution des revenus des éleveurs. De tels problèmes ne sont pas restreints aux pays en voie de développement. Au Royaume-Uni par exemple, un conflit a éclaté entre les éleveurs et les groupes de conservation

et de bien-être animal sur la possibilité que la tuberculose bovine, causée par *Mycobacterium bovis*, puisse être transmise entre les blaireaux et les vaches (Delahay et al. 1998).

La connaissance accrue des agents pathogènes de la faune sauvage et la limitation des contacts entre les espèces sauvages et domestiques ainsi qu'avec l'homme, sont la clé de voûte du dispositif de maîtrise du risque sanitaire émergent (Artois et al. 2006).

2. LES ESPECES INTRODUITES MODIFIENT LA CIRCULATION DES AGENTS PATHOGENES ZOONOTIQUES

Une espèce introduite est une espèce observée à l'extérieur de son aire de répartition naturelle, du fait de son introduction d'origine anthropique, volontaire ou non. Les introductions d'espèces sont considérées comme un des cinq grands problèmes environnementaux (Sala et al. 2000). Elles peuvent avoir des conséquences importantes sur la biodiversité et la structure des communautés ainsi que des conséquences économiques du fait de la modification des habitats naturels ou artificiels (Pimentel et al. 2001). Étonnamment, la majorité des travaux, qui étudient comment la dynamique de transmission d'un agent pathogène est modifiée, s'intéresse à des communautés composées d'espèces déjà présentes dans les écosystèmes, mais dont les abondances relatives changent (LoGiudice et al. 2003, Krasnov et al. 2007, Swaddle and Calos 2008). En revanche, peu d'études ont abordé les modifications potentielles de la circulation d'agents pathogènes dans une communauté d'hôtes dans des cas d'introduction.

2.1. Les introductions d'espèces dans le monde et en Europe

Les introductions d'espèces remontent à la Préhistoire, dès que les hommes ont commencé à se déplacer sur de grandes échelles. Les plus anciennes introductions ont été mises en évidence sur les systèmes insulaires, la première connue étant celle du marsupial *Phalanger Orientalis* dans l'archipel Bismarck, à l'Est de la Nouvelle-Guinée, il y a 19 000 ans (Heinsohn 2003). Suite au développement des systèmes d'échanges internationaux, l'introduction d'espèces s'est accrue à partir du 17ème siècle. Ces cinquante dernières années, le processus s'est accéléré en relation avec une forte augmentation d'activités humaines, tel que le transport, le commerce ou les loisirs. L'Union internationale pour la conservation de la nature (IUCN) a estimé que 625 des espèces répertoriées comme menacées encourent un danger d'extinction lié à l'introduction d'espèces (Vié et al. 2009). Dans un inventaire réalisé en février 2007, le projet DAISIE (Delivering Alien Invasive Species Inventories for Europe) a répertorié un total de 10 961 espèces étrangères (tous clades

confondus) en Europe. Plus de 6 000 espèces exotiques animales et végétales se sont établies en Europe depuis le 16ème siècle. Parmi ces introductions, les plantes et arthropodes, essentiellement des insectes, dominent largement les autres groupes d'organismes. Actuellement, trois mécanismes principaux sont à l'origine de l'introduction d'une espèce dans un nouveau milieu, en relation directe ou indirecte avec des activités humaines : l'importation de marchandises, le transport d'un vecteur biologique, et/ou l'expansion naturelle à partir de régions voisines, où l'espèce était déjà exotique (Hulme et al. 2008). La majorité des introductions n'a pas d'effet négatif identifié, mais les espèces qui en ont un, modifient profondément les écosystèmes.

2.2. Conséquences économiques et écologiques des introductions d'espèces

Chaque espèce introduite, si elle se propage avec succès, s'insère dans un réseau d'interactions biotiques déjà bien établies et peut être la cause éventuelle de la déstabilisation de l'écosystème (Thomas et al. 2007). La présence du ragondin, par exemple, a des conséquences sur les écosystèmes de différents ordres : du point de vue économique en endommageant les récoltes, du point de vue écologique en perturbant fortement la végétation des rives et du point de vue sanitaire en transmettant la leptospirose (Vila et al. 2010). Les introductions d'espèces peuvent aussi avoir des conséquences positives. L'introduction d'espèces domestiques servant à la production de nourriture ou au transport de marchandises a favorisé le développement de nombreuses populations humaines (Diamond 2002). Certaines études ont mis en évidence une augmentation de la biodiversité suite à des introductions d'espèces (Pimentel et al. 2001). Cependant, les effets d'une introduction d'espèces sont souvent difficiles à évaluer et apparaissent parfois paradoxaux ; des effets positifs et négatifs peuvent être observés simultanément (Fridley et al. 2007), la notion de positif ou négatif étant de toute façon relative et dépendant de valeurs culturelles.

Les introductions d'espèces, qui deviennent envahissantes, peuvent avoir un coût économique important lié à des pertes de profits, à la détérioration d'infrastructures et à la restauration des milieux naturels (Perrings et al. 2002). Aux Etats-Unis, les pertes économiques causées par de telles introductions ont été estimées à plus de 314 milliards de dollars US par an (Pimentel et al. 2001). Les espèces invasives les plus problématiques en terme économique sont les invertébrés terrestres, qui ont des effets ciblés mais importants sur les cultures et les forêts. Au Royaume-Uni, on estime à 2,8 milliards d'euros les pertes annuelles de récoltes dues aux arthropodes exotiques.

Les effets négatifs des introductions d'espèces sur la biodiversité apparaissent lorsqu'une espèce parvient à se naturaliser, une espèce sur dix selon Williamson et collaborateurs (1996). Ces effets sont d'autant plus importants que l'espèce est envahissante. Une espèce introduite peut perturber l'écosystème en éliminant une ou plusieurs espèces par prédation, compétition ou hybridation (Clavero and Garcia-Berthou 2005). En Angleterre, l'introduction de l'écureuil gris (*Sciurus carolinensis*) originaire d'Amérique du Nord a engendré une forte réduction de l'aire de répartition de l'écureuil roux (*Sciurus vulgaris*) natif, principalement par compétition directe pour les ressources et l'habitat (Gurnell et al. 2004). Les impacts indirects des introductions sont susceptibles de modifier les densités d'une espèce prédatrice ou parasite indigène (Courchamp et al. 2003). Par exemple, l'introduction du vison d'Amérique (*Mustela vison*) a diminué, par exploitation compétitive, la proportion de larges proies dans le régime alimentaire des visons européens (*Mustela lutreola*) (Sidorovich et al. 2010). En milieux insulaires, isolés géographiquement et plus sensibles aux perturbations, des changements majeurs de la structure et du fonctionnement des communautés et des écosystèmes peuvent être engendrés par l'introduction d'une ou plusieurs espèces envahissantes (Williamson and Fitter 1996). C'est le cas de certains herbivores, comme le lapin (*Oryctolagus cuniculus*) introduit sur les îles Kerguelen, qui transforment profondément les communautés végétales et contribuent à l'augmentation des phénomènes d'érosion (Chapuis et al. 1994).

2.3. Modification de la circulation d'agents pathogènes suite à l'introduction d'une espèce hôte

Le parasitisme peut jouer un rôle très important dans l'impact des espèces introduites sur leur nouvel écosystème : l'espèce introduite peut (i) transporter avec elle des agents pathogènes capables d'infecter les espèces locales (notion de "spillover", que l'on désignera comme un "ajout" d'un agent pathogène par la suite), (ii) amplifier la circulation d'agents pathogènes déjà présents dans la région où elle est introduite (notion de "spillback", que l'on désignera par "amplification" de la circulation d'un agent pathogène natif dans la suite du document, Kelly et al. 2009) ou (iii) réduire la circulation d'un agent pathogène local, du fait de sa moindre efficacité de transmission par rapport aux réservoirs natifs (effet dilution, noté "diminution" de la circulation d'un agent pathogène, Ostfeld and Keesing 2000) (Figure 5).

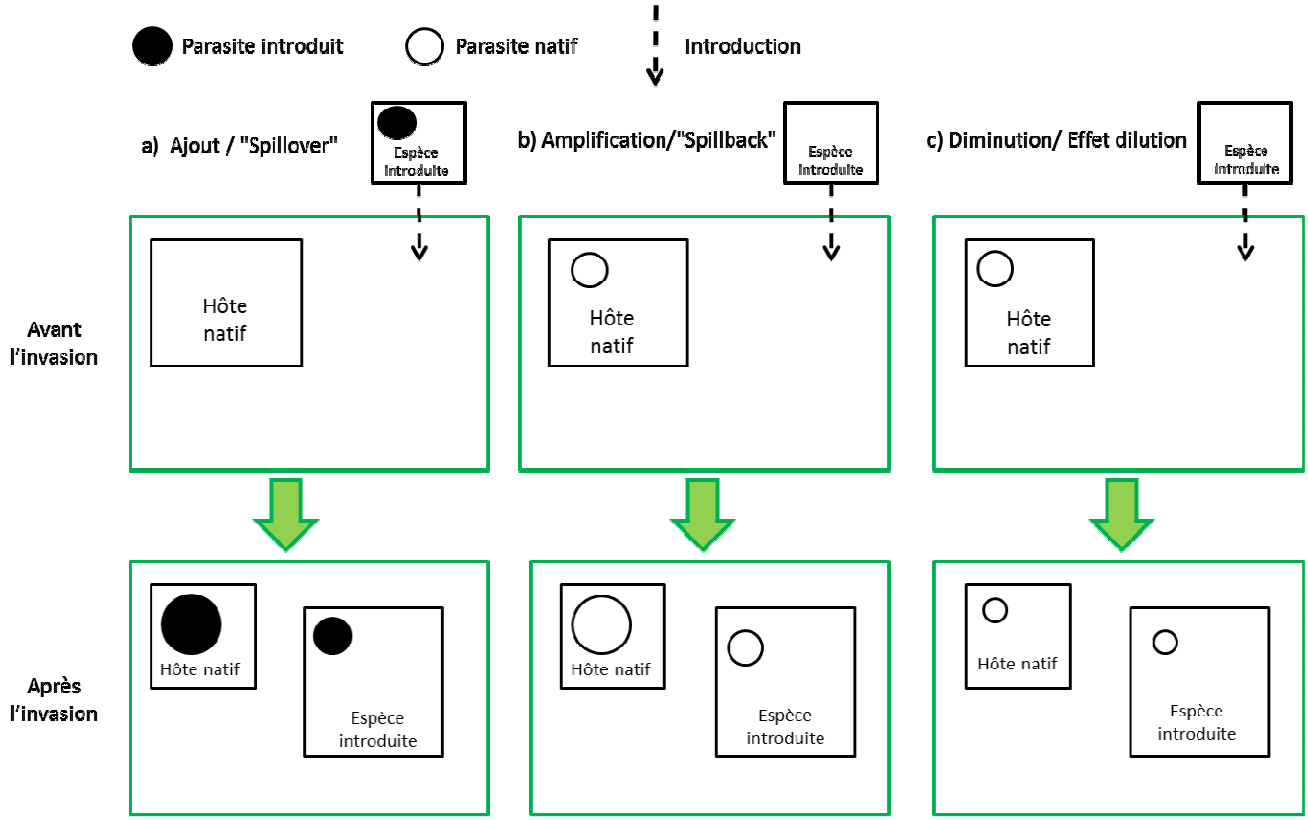


Figure 5 : Les notions de spillover, de spillback et d'effet dilution.
Les grands rectangles représentent l'environnement. La taille des rectangles des hôtes représente la taille de population. La taille des cercles dans les rectangles des hôtes représente la prévalence d'infection. a) Ajout ou spillover : l'infection dans une population d'hôtes natifs par un parasite d'une espèce introduite apparaît après l'introduction simultanée du parasite. b) Amplification ou spillback : l'espèce introduite acquiert un parasite natif qui est déjà présent dans la population native. La prévalence d'infection de ce parasite est augmentée par la présence de l'espèce introduite, qui joue le rôle de nouveau réservoir pour le parasite natif. c) Diminution ou effet dilution : l'espèce introduite acquiert un parasite natif qui est déjà présent dans la population native ou diminue la transmission du parasite entre les individus d'hôtes natifs. La présence des populations de l'espèce introduite diminue la transmission du parasite natif, ce qui a pour effet de diluer le risque global de la maladie. Ce schéma est inspiré de Kelly et collaborateurs (2009).

L'hypothèse de relâchement de la pression parasitaire ("enemy release hypothesis") propose que les espèces introduites sont généralement moins parasitées dans leur nouveau milieu que dans leur région d'origine (Torchin et al. 2003). Les mécanismes potentiels pouvant expliquer cette hypothèse sont (i) le fait que les individus introduits ont une faible probabilité d'être parasités par l'ensemble des parasites de son aire de répartition d'origine et (ii) la perte potentielle de parasites lors de l'introduction. En revanche, lorsque les espèces introduites introduisent aussi un agent pathogène, cela induit souvent des conséquences sanitaires importantes sur les populations locales, parce que ces populations sont naïves vis-à-vis des agents pathogènes introduits. Plusieurs cas d'introductions illustrent ce phénomène. L'introduction d'oiseaux infectés par le paludisme aviaire à Hawaï a entraîné une importante augmentation de la mortalité des passereaux endémiques, qui, de

plus, ne peuvent plus nicher qu'en zone d'absence des moustiques vecteurs (Atkinson and LaPointe 2009). Suite à l'introduction de l'écrevisse américaine (*Orconectes limosus*) en Europe, la peste des écrevisses (*Aphanomyces astaci*) a induit une forte mortalité des espèces d'écrevisses européennes (Kozubikova et al. 2009).

Relativement peu d'études se sont intéressées à l'amplification d'un parasite local ("spillback"). Un exemple bien documenté est celui de l'introduction il y a environ 40 ans, du moineau domestique (*Passer domesticus*) dans des falaises du Nebraska (USA) abritant des colonies d'hirondelles à front blanc (*Petrochelidon pyrrhonota*). Les moineaux introduits ont été infectés par un alphavirus présent localement transmis par des piqûres de punaises (Buggy Creek virus). Or, ces moineaux sont très infectés par ce virus, puisque leur prévalence d'infection est huit fois supérieure à celles des hirondelles locales. O'Brien et collaborateurs (2011) ont montré que la présence du moineau augmente ainsi la probabilité que les hirondelles soient infectées.

Le concept d'effet de dilution a été développé dans des communautés d'hôtes avec des abondances relatives différentes. En Amérique du Nord, la souris à pattes blanches (*Peromyscus leucopus*) est *a priori* le réservoir le plus compétent pour l'agent de la maladie de Lyme et le plus abondant dans les forêts fragmentées. Dans les forêts natives, la plus grande diversité en rongeurs induit une plus forte probabilité pour les tiques de se nourrir sur un vertébré moins compétent que la souris à pattes blanches, ce qui "dilue" le risque de transmission (LoGiudice et al. 2003). Un autre exemple est celui du virus du West Nile, pour lequel une augmentation de la diversité de la communauté d'oiseaux en espèces moins compétentes (n'appartenant pas à l'ordre des passereaux) est associée à une diminution de l'infection du virus chez les moustiques et chez l'homme (Swaddle and Calos 2008). Le concept d'effet de dilution peut directement s'appliquer aux cas d'introduction d'espèces, même si cela n'a jamais été documenté, à notre connaissance. Cela correspondrait au fait qu'une espèce introduite diminue le risque de transmission d'un agent pathogène local.

Le fait qu'une espèce introduite amplifie ou diminue la circulation d'un agent pathogène présent localement dépend de plusieurs mécanismes (Begon 2008). Deux d'entre eux agissent directement sur la transmission d'un agent pathogène par une espèce introduite :
- la "compétence" (voir paragraphe 3.1.2 de la Partie I) de l'espèce introduite en tant que réservoir, c'est-à-dire sa faculté à transmettre efficacement l'agent pathogène,

- le taux de contact entre l'espèce introduite et les éléments infectieux (vecteur ou contact direct), qui dépend de l'abondance des populations, des interactions entre espèces et de la préférence trophique du vecteur le cas échéant.

L'arrivée dans un système déjà établi de circulation de pathogènes d'une nouvelle espèce est un cadre idéal d'étude de la dynamique des maladies infectieuses. En effet, l'effet perturbateur va "redistribuer les cartes" et le rôle de chaque espèce peut être perturbé.

2.4. Nouveaux Animaux de Compagnie, source d'introduction d'espèces

La France compte près de 61 millions d'animaux de compagnie. Parmi ces animaux, les espèces exotiques sont appelées "Nouveaux Animaux de Compagnie" (NAC). Ces espèces (oiseaux, reptiles et amphibiens principalement) mal adaptées à la vie en captivité, sont parfois relâchées par leurs propriétaires. L'industrie des animaux de compagnie est ainsi fortement impliquée dans l'introduction d'espèces exotiques en Europe (Mack et al. 2000). Dans ce continent, par exemple, six espèces de Sciuridés ont été introduites pour l'ornementation de parcs ou relâchés par des propriétaires (encadré 1). Leur introduction, comme nous l'avons vu précédemment, peut modifier profondément les communautés d'espèces locales et engendrer des problèmes sanitaires. Des tortues de Floride (*Trachemys scripta elegans*), par exemple, originaires d'Amérique et vendues dans les animaleries d'Europe, ont été relâchées dans la nature. Ces tortues pourraient menacer les populations de cistudes d'Europe (*Emys orbicularis*) par compétition (Cadi and Joly 2004).

Encadré 1 : Les écureuils introduits en Europe.
Encadré issu de la thèse de J. Marmet (2008).

Écureuil de Barbarie *Atlantoxerus getulus* Linnaeus 1758
Origine : Afrique du Nord
Lieu d'introduction : Ile de Fuerteventura, Espagne (1965)
Mode d'introduction : Animal de compagnie/zoo, relâché/échappé
Impacts: perturbation du mécanisme de dispersion des plantes, des populations de prédateurs, introduction de parasites, prédation d'oisillons et d'escargots endémiques, dégâts dans les cultures
Référence : Lopez-Darias et collaborateurs (2008)

Écureuil de Finlayson *Callosciurus finlaysoni* Horsfield 1824
Origine : Indochine
Lieu d'introduction : Italie (1981)
Impacts : écorçage
Mode d'introduction : Agrément, relâché
Référence: Bertolino et collaborateurs (2004)

Écureuil à ventre rouge *Callosciurus erythraeus* Pallas 1779
Origine : Sud Est de l'Asie
Lieux d'introduction : France (1970), Argentine (1970), Japon (1935)
Mode d'introduction : animal de compagnie, relâché
Impacts : compétition avec l'écureuil roux, écorçage d'arbres et arbustes, consommation de fruits, rongement des câbles téléphonique
Références : Jouanin C. (1986), Moyamoto et collaborateurs (2004)

Écureuil gris *Sciurus carolinensis* Gmelin 1788
Origine : Amérique du Nord (Est)
Lieux d'introduction : Angleterre (1876), Ecosse (1892), Irlande (1913) Italie (1948) ; Afrique du Sud (1890's), Canada/USA (1914)
Mode d'introduction : agrément, élevage pour la fourrure
Impacts : élimination de l'écureuil roux, consommation de semences, écorçage
Références : Bertolino et collaborateurs (2000), Palmer et collaborateurs (2008)

Tamia strié *Tamias striatus* Linnaeus 1758
Origine : Amérique du Nord
Lieux d'introduction : Allemagne
Mode d'introduction : animal de compagnie, relâché/échappé
Impacts : non signalés
Références : Chapuis et collaborateurs (2011)

Tamia de Sibérie *Tamias sibiricus* Laxmann 1769
Origine : Eurasie, Asie
Lieux d'introduction : Allemagne, Belgique, Italie, France, Pays-Bas, Suisse (depuis les années 1970)
Mode d'introduction : animal de compagnie, relâché/échappé
Impacts : non signalé, études en cours
Références: Amori et collaborateurs (1995), Chapuis et collaborateurs (2005) et Riegel et collaborateurs (2000)

3. QUANTIFICATION DU ROLE D'ESPECES RESERVOIRS DANS LA CIRCULATION D'AGENTS PATHOGENES

Un des défis majeurs posé aussi bien par l'émergence de nouvelles maladies (SARS et la fièvre hémorragique d'Ebola) que par l'introduction d'espèces est de quantifier les contributions respectives des espèces à la dynamique de transmission de la maladie. Cette quantification permet d'identifier les mesures clés de prévention à établir afin de réduire la transmission d'agents pathogènes vers certaines espèces hôtes (l'homme, le bétail, les espèces menacées etc.) (Haydon et al. 2002). Cependant, cette quantification n'est pas aisée, car il s'agit de prendre en compte, non seulement les caractéristiques propres à l'espèce mais aussi les caractéristiques des populations en jeu (Figure 6).

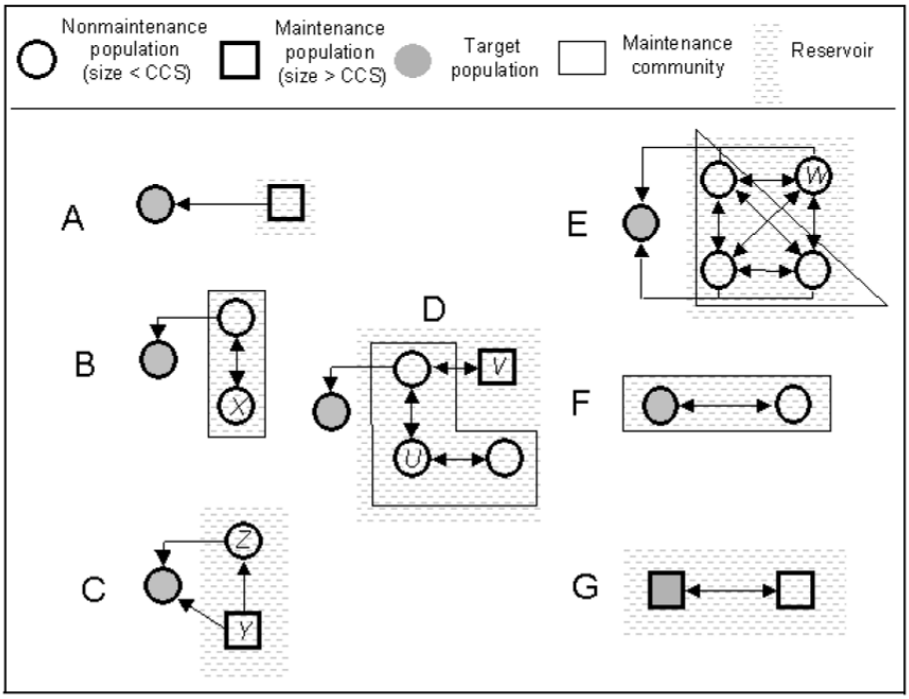


Figure 6 : Systèmes épidémiologiques incluant des populations réservoirs et des populations cibles.
Dans le cas le plus simple A, la population de maintenance, permettant la persistance de l'agent pathogène, transmet un agent pathogène à une population cible. Pour le cas B, le réservoir est composé de deux populations de non-maintenance connectées, dont une est la source d'infection. Aucune des deux populations ne pourrait constituer un réservoir à elle seule. Le cas C montre une situation dans laquelle Y est une population de maintenance, mais la transmission peut se produire directement entre Y et la population cible ou par le biais d'une autre population source Z. Même si elle n'est pas essentielle à la maintenance du pathogène, Z fait partie du réservoir car elle contribue à la transmission à la cible. En D, 4 populations non cibles doivent être inclues dans le réservoir si sa dynamique globale veut être étudiée. L'élimination de l'infection en U ne va pas conduire à l'élimination de l'infection pour la cible parce que V est une population de maintenance indépendante. Dans le cas E, toutes les populations sont sources. Si W n'est pas nécessaire pour maintenir l'infection, W ne fait pas partie de la communauté de maintenance mais fait partie du réservoir étant une source. F illustre que la cible peut faire partie du réservoir et G que la population cible peut être une population de maintenance. Issue de Haydon et collaborateurs (2002).

3.1. Définition et caractéristiques d'un hôte réservoir

Les agents pathogènes multi-hôtes n'ont généralement pas les mêmes effets chez toutes les espèces qu'ils infectent. La notion d'hôte réservoir est utilisée pour faire référence à une espèce pour laquelle l'infection perdure et qui est source d'infection pour l'espèce cible. Cependant, cette notion reste imprécise.

3.1.1. Qu'est-ce qu'un réservoir animal ?

D'après Ashford et collaborateurs (2003), le terme hôte réservoir est utilisé en 1913 pour la première fois en médecine animale : « le singe est probablement l'hôte réservoir pour *Physaloptera mordens* » (David 2005) parasite de l'estomac de l'homme en Afrique tropicale provoquant la spirurose. Actuellement, plusieurs points de vue sont avancés :

- le niveau d'organisation appliqué à la notion de réservoir le plus généralement utilisé est celui de l'espèce (Toma 1991, Gern et al. 1998, Naranjo et al. 2008), mais certaines définitions font explicitement référence à des populations (Delahay et al. 1998, Ashford 2003) ou des caractéristiques individuelles (Jammal 1988). Dans certaines acceptations du terme de réservoir, un individu d'une espèce peut être le réservoir naturel d'un agent pathogène mais uniquement dans un contexte écologique et environnemental particulier (Gessain 2006) ;
- le réservoir doit pouvoir s'infecter par l'agent pathogène et permettre son maintien soit au niveau des individus, soit au niveau des populations (Jammal 1988, Ashford 2003), soit pour certaines définitions, au niveau de plusieurs populations d'espèces différentes (Haydon et al. 2002). Le maintien d'un agent infectieux dans un réservoir requiert que l'agent soit transmis entre les individus de l'espèce réservoir, soit directement, soit indirectement *via* des vecteurs (Daniels et al. 2007) ;
- la persistance de l'agent pathogène au sein du réservoir doit être suffisante pour que l'agent puisse être transmis à une population cible (Jammal 1988, Gern et al. 1998). La durée de persistance dépend donc du système étudié, notamment du mode de transmission ;
- le réservoir doit pouvoir transmettre l'agent pathogène, car il est une source d'infection ;
- il n'y a pas de consensus sur la cible de la transmission de l'agent pathogène par le réservoir. D'après Haydon et collaborateurs (2002), la notion de réservoir peut coïncider ou non avec celle de la population cible. Par exemple, bien que le renard succombe à la rage, le virus est entretenu dans la population vulpine par transmission continuelle d'un renard à l'autre (Toma 1991). Dans ce cas, le renard est réservoir et espèce cible. Pour d'autres, l'espèce ou la population cible doit

être différente du réservoir ; ainsi le renard est considéré comme une espèce réservoir pour la rage chez l'Homme, mais pas pour la rage vulpine ;

- la notion de porteur asymptomatique chez le réservoir est souvent sous-entendue. Cependant, le réservoir peut être aussi touché par l'agent pathogène, du moment qu'il survit assez longtemps pour ne pas bloquer le cycle de transmission. Par exemple, en Ecosse, le lagopède (*Lagopus lagopus scoticus*) n'est pas considéré comme une espèce réservoir pour le virus louping ill, responsable de l'encéphalite à tiques du mouton, car le virus cause un fort taux de mortalité dans les populations de l'espèce, ce qui engendre des effectifs en dessous du seuil critique pour la persistance virale (Laurenson et al. 2003) ;
- un réservoir peut aussi être un vecteur de la maladie, lorsqu'il s'agit d'un arthropode qui entretient le cycle de transmission de l'agent pathogène grâce à la transmission verticale de l'agent des femelles à sa descendance (Haydon et al. 2002). Dans le cadre du virus amaril (du genre *Flavivirus*), responsable de la fièvre jaune, le moustique du genre *Aedes* est à la fois vecteur et réservoir (Gessain 2006).

Un réservoir peut ainsi être défini comme une espèce qui héberge un agent pathogène, le transmet au sein de l'espèce et est source d'infection pour une espèce cible, différente ou non de l'espèce réservoir. La persistance de l'agent pathogène au sein de l'espèce réservoir doit être suffisante pour infecter une population cible et le réservoir peut être touché par le pathogène mais seulement dans les conditions qui permettent la transmission à l'espèce cible. De la définition proposée ci-dessus, nous voyons que le terme "réservoir" communément utilisé comme un terme qualitatif (« cette espèce est ou n'est pas réservoir pour tel agent pathogène ») reflète en fait des caractéristiques à la fois qualitatives propres à l'espèce mais aussi quantitatives propres à l'espèce et au contexte épidémiologique. Là encore, la terminologie utilisée n'est pas standardisée avec des termes qui se recoupent ou qui sont redondants. Nous allons donc clarifier les différentes caractérisations de la notion de réservoir en nous inspirant des termes de compétence et de capacité, utilisés pour les vecteurs (Peavey et al. 2000).

3.1.2. Compétence du réservoir

La compétence du réservoir vis-à-vis d'un agent pathogène donné (Figure 7) est la faculté pour une espèce d'être infectée par l'agent pathogène (« sensibilité à l'agent pathogène ») puis de retransmettre ensuite cette infection à l'espèce cible, au vecteur de la maladie ou aux autres réservoirs (« infectivité ») (Kahl et al. 2002). La compétence d'un réservoir dépend de facteurs

intrinsèques, tel que la capacité de l'agent pathogène à survivre et proliférer dans les tissus de l'hôte, qui dépend du système immunitaire de l'hôte. De même, la compétence du réservoir est mesurée en général en milieu contrôlé au laboratoire. Pour les maladies vectorielles, l'infectivité correspond à la probabilité pour un individu infecté de transmettre l'infection à un vecteur se nourrissant sur lui (Giery and Ostfeld 2007, Brunner et al. 2008). Pour les maladies non vectorielles, ce serait la probabilité d'infection d'un individu de l'espèce cible dans les conditions de transmission de la maladie (par contact direct ou indirect via l'environnement ou l'alimentation).

3.1.3. Capacité du réservoir

La capacité du réservoir (Figure 7) reflète l'efficacité d'une population d'une espèce réservoir dans un espace spatio-temporel donné à transmettre l'infection. Elle représente la somme de différents phénomènes, à savoir l'aptitude du réservoir à s'infecter, à assurer le développement du pathogène et à le transmettre. Cette notion comprend à la fois des caractéristiques de compétence et des facteurs extrinsèques. Pour une maladie vectorielle, la capacité de réservoir dépend de la proportion de vecteurs nourris par un individu, de la prévalence de l'infection dans la population réservoir et de l'abondance de l'espèce réservoir (Mather et al. 1989, Kahl et al. 2002). Une population de réservoir dans un milieu donné ayant une capacité de réservoir élevée est une population sur laquelle un grand nombre de vecteurs se nourrissent avec succès et sont infectés. Une population a une faible capacité de réservoir parce que : (i) elle nourrit peu de vecteurs, (ii) la prévalence dans la population est faible du fait de la faible sensibilité de l'espèce ou des conditions épidémiologiques, (iii) elle n'est pas capable de leur transmettre l'agent pathogène (faible infectivité), ou (iv) elle n'est pas suffisamment abondante pour permettre la transmission de l'agent pathogène (Brunner et al. 2008).

Deux exemples peuvent illustrer cette notion de capacité de réservoir. Les populations de canards de plusieurs espèces ont différentes capacités de réservoir pour le virus Influenza A à cause de variations dans le comportement, les préférences de niches écologiques et les chemins de migrations affectant les interactions avec la population humaine (Webby 2007). Mather et collaborateurs (1989) comparent la capacité de plusieurs hôtes réservoirs pour la transmission de *B. burgdorferi* sl, dans les forêts du Massachussetts (USA). Les populations de souris à pattes blanches ont une plus forte capacité de réservoir par rapport aux tamias striés (*Tamias striatus*) et aux campagnols des prés (*Microtus pennsylvanicus*). En effet, ces souris ont à la fois une plus forte prévalence d'infection, une plus forte infectivité vis-à-vis des tiques et une plus forte abondance.

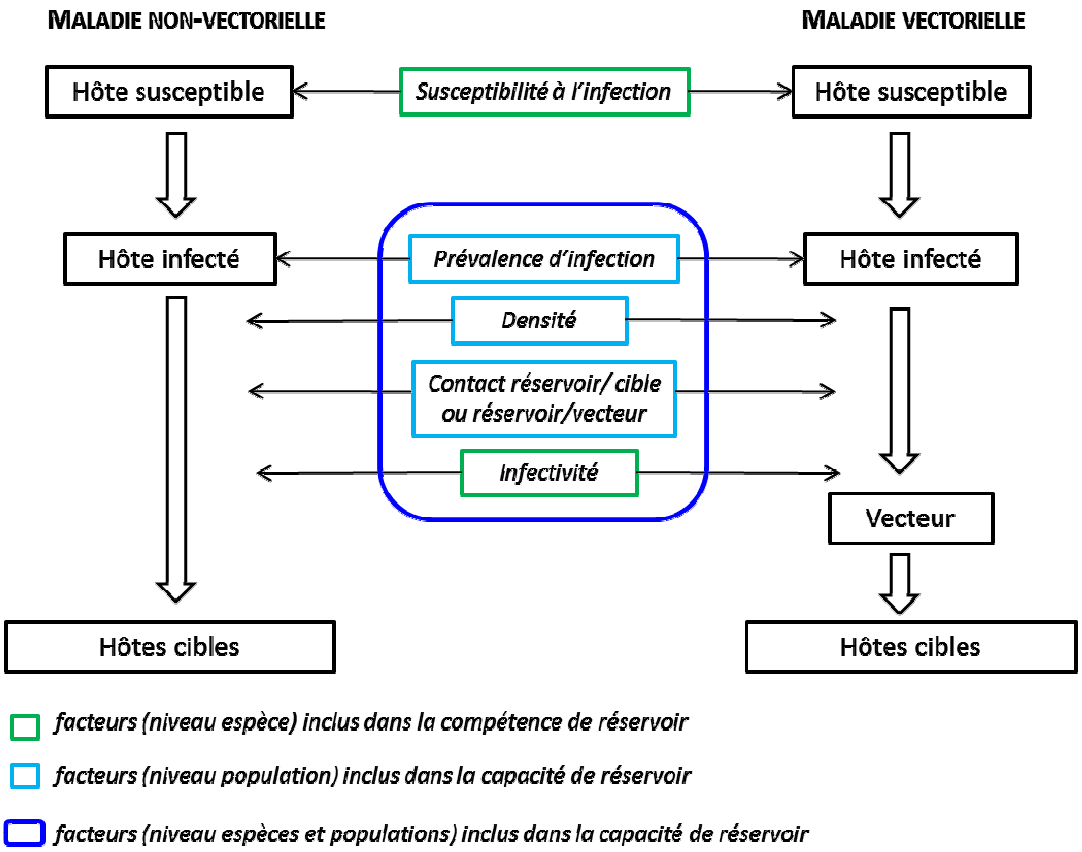


Figure 7 : Schéma récapitulatif des notions de compétence et de capacité de réservoir.
Schéma valable pour des maladies vectorielles ou non, inspiré de Randolph et collaborateurs (1995).

Pour qu'une espèce puisse être considérée comme réservoir, il faut qu'elle soit compétente pour l'agent pathogène en question. Pour déterminer le rôle d'une population d'espèce réservoir dans la circulation d'un agent pathogène, il faut être capable d'estimer sa capacité en tant que réservoir dans l'environnement donné. Les principaux points étudiés sont la sensibilité à l'infection, l'infectivité (probabilité de transmission de l'infection), la prévalence d'infection (probabilité d'être infecté), la densité du réservoir et le contact réservoir/cible ou réservoir/vecteur (Figure 7).

3.2. Identification des espèces réservoirs

L'existence d'un réservoir est confirmée quand l'infection dans la population cible ne peut pas être maintenue après que toutes les transmissions entre populations cibles et non-cibles aient été éliminées (Haydon et al. 2002). Ces expériences sont difficiles à mettre en œuvre à une échelle significative avec suffisamment de répétitions. Un des rares exemples où cette méthode a été utilisée est l'identification du rôle des blaireaux (*Meles meles*) dans l'épidémiologie de la tuberculose bovine (*Mycobacterium bovis*) (Delahay et al. 1998). Dans une communauté d'hôtes, pour lesquels il n'existe pas d'information sur leur compétence en tant que réservoir, l'identification d'une population réservoir nécessite d'avoir une preuve de transmission directe ou indirecte à la

population cible. Ces preuves vont dépendre des systèmes étudiés. L'identification des populations non-réservoirs est aussi importante pour comprendre la dynamique de circulation d'un agent pathogène dans une communauté. Par exemple, les buffles d'eau (*Bubalus* sp), reconnus comme compétents vis-à-vis de *M. bovis*, ne participent pas à la circulation de la bactérie en Australie, car ils ne sont pas en contact avec le bétail (Corner 2006).

3.3. Quantification de la contribution de populations de réservoirs à la circulation d'agents pathogènes multi-hôtes

Dans la littérature, différentes méthodes existent pour quantifier la capacité de réservoir d'une population. Des quasi-expériences (assemblages d'une gamme de preuves) (May 1999) peuvent être utilisées pour montrer l'importance d'un réservoir en milieu naturel. Laurenson et collaborateurs (2003) suggèrent que le lièvre variable (*Lepus timidus*) a un rôle important dans la transmission du virus louping ill au mouton en montrant : (i) que le lièvre est infesté par tous les stades des tiques, (ii) qu'il est très parasité par les tiques et (iii) que la séroprévalence chez le mouton diminuent lorsque la densité de lièvres décroît. Les modèles développés pour estimer la part des hôtes dans la contribution au risque sont paramétrés à partir de données issues de la littérature, de dires d'experts (Hartemink et al. 2008) ou de données collectées en milieu naturel (Randolph and Craine 1995). D'autres auteurs estiment la contribution d'espèces à partir d'indices, calculés à partir de données collectées en milieu naturel, et non de modèles (Mather et al. 1989). Ces études présentent des résultats ou des indices moyens par population étudiée dans le système hôte-pathogène. Elles ne prennent pas en compte la variabilité des paramètres utilisés pour calculer la capacité de réservoir. Cependant, de nombreux paramètres utilisés dans les indices ou les modèles sont variables, aussi bien au niveau individuel (infectivité, infestation) que dans le temps ou dans l'espace (abondance des populations, disponibilité en tiques sur le milieu). L'enjeu est d'améliorer le calcul de contribution des populations de réservoirs.

4. PROBLEMATIQUE

L'émergence de maladies infectieuses soulève des enjeux économiques, sanitaires et écologiques au niveau local mais aussi au niveau mondial. Comme plus de 60 % des maladies infectieuses émergentes chez l'homme sont des zoonoses et près de 70 % d'entre elles proviennent de la faune sauvage, comprendre la biologie des populations d'agents pathogènes multi-hôtes devient un des challenges majeurs de l'épidémiologie actuelle afin d'informer les structures de prévention et de gestion des évènements de maladies émergentes. Ces études nécessitent une

meilleure prise en compte de la diversité des agents pathogènes et des interactions entre les agents pathogènes, les hôtes - qu'il s'agisse de l'homme, d'animaux domestiques ou sauvages - les vecteurs et l'environnement. Ceci implique nécessairement d'être confronté à la complexité et à la variabilité du système impliqué. Les introductions d'espèces sont une des causes de perturbation de la circulation d'un pathogène pouvant conduire à l'émergence des maladies, qui leur sont associées.

Dans ma thèse, nous avons pris l'exemple d'une maladie vectorielle transmise entre de nombreux vertébrés, la maladie de Lyme, afin de comprendre comment l'introduction d'une espèce potentiellement réservoir, le tamia de Sibérie (*Tamias sibiricus barberi*), peut modifier la circulation de l'agent pathogène. La maladie de Lyme est la maladie vectorielle la plus prévalente en Europe et en Amérique du Nord (Smith et al. 2006). L'éco-épidémiologie de la maladie de Lyme est complexe puisqu'elle est causée par plusieurs bactéries du complexe d'espèces *B. burgdorferi* sensu lato, transmises en Europe par les tiques *Ixodes ricinus*, qui peuvent se nourrir sur plusieurs centaines d'espèces de vertébrés (Gern and Humair 2002). Les espèces réservoirs de cette maladie sont un sous échantillon des espèces sur lesquelles se gorgent les tiques, principalement des espèces de rongeurs et d'oiseaux (Gern et al. 1998). Le tamia de Sibérie, Sciuridé originaire d'Asie et vendu dans les animaleries depuis les années 1960, a été introduit dans différents parcs urbains et forêts périurbaines d'Ile-de-France et de Picardie (Chapuis 2005). De premiers travaux réalisés en Forêt de Sénart (Essonne) par Vourc'h et collaborateurs (2007) ont montré que cet écureuil pouvait être un réservoir important des bactéries responsables de la maladie de Lyme. Toutefois, ces résultats portaient sur l'analyse d'un petit nombre d'individus (n=33). Nous avons ainsi poursuivi ce travail sur ce même site d'étude où la population de tamias, comptant plus de 10 000 individus, est installée depuis le début des années 1970.

Après la description du site d'étude, des espèces hôtes étudiées et de la méthodologie générale (Partie II), nous nous intéresserons en premier lieu à étudier la compétence du tamia de Sibérie, en milieu naturel, en tant que réservoir de *B. burgdorferi* sl (Partie III). Nous verrons s'il est capable d'héberger, de maintenir et de transmettre *B. burgdorferi* sl aux tiques. Puis nous étudierons l'importance relative du tamia par rapport aux rongeurs réservoirs natifs (Partie IV) en étudiant la contribution du tamia au risque acarologique (production de nymphes infectées à l'affût) sur un site de suivi longitudinal des populations de rongeurs, puis sur des sites avec et sans tamias. Nous développerons la méthodologie de calcul des indices de contribution utilisée puis les résultats associés. Finalement, nous terminerons par une discussion générale des résultats, suivie d'une conclusion (Partie V et VI).

PARTIE II : SYSTEMES D'ETUDE

Dans cette partie, je vais présenter les principaux éléments constituant les systèmes d'étude de ma thèse (la borréliose de Lyme, le tamia de Sibérie, les sites d'étude de la forêt de Sénart, les communautés de vertébrés), puis les méthodes utilisées.

1. LA MALADIE DE LYME

En France, l'Institut de Veille Sanitaire inclut la borréliose de Lyme parmi les 20 maladies prioritaires pour la surveillance, du fait que cette maladie est considérée comme émergente et potentiellement grave (Capek et al. 2006). Une étude nationale prospective effectuée par le réseau Sentinelles français a mis en évidence une incidence moyenne de 9,4 cas pour 100 000 habitants (Letrilliart et al. 2005). Cependant, des études régionales conduites en Auvergne, en Lorraine, dans le Limousin et en Alsace, indiquent des incidences plus élevées, avec 93 cas pour 100 000 habitants en Auvergne, jusqu'à un maximum de 180 cas pour 100 000 habitants en Alsace (Schmitt et al. 2006, Beytout et al. 2007).

La borréliose de Lyme est causée par des bactéries pathogènes, qui appartiennent au complexe d'espèces *B. burgdorferi* sl. Ces bactéries sont transmises à l'homme par des morsures de tiques, principalement par *I. ricinus* en Europe (Piesman and Gern 2004, Pérez-Eid 2007). La borréliose de Lyme cause chez l'homme des manifestations neurologiques et/ou arthritiques inflammatoires, des syndromes cardiaques, des manifestations oculaires et dermatologiques précédées d'un large érythème après la morsure de la tique (Pérez-Eid 2007).

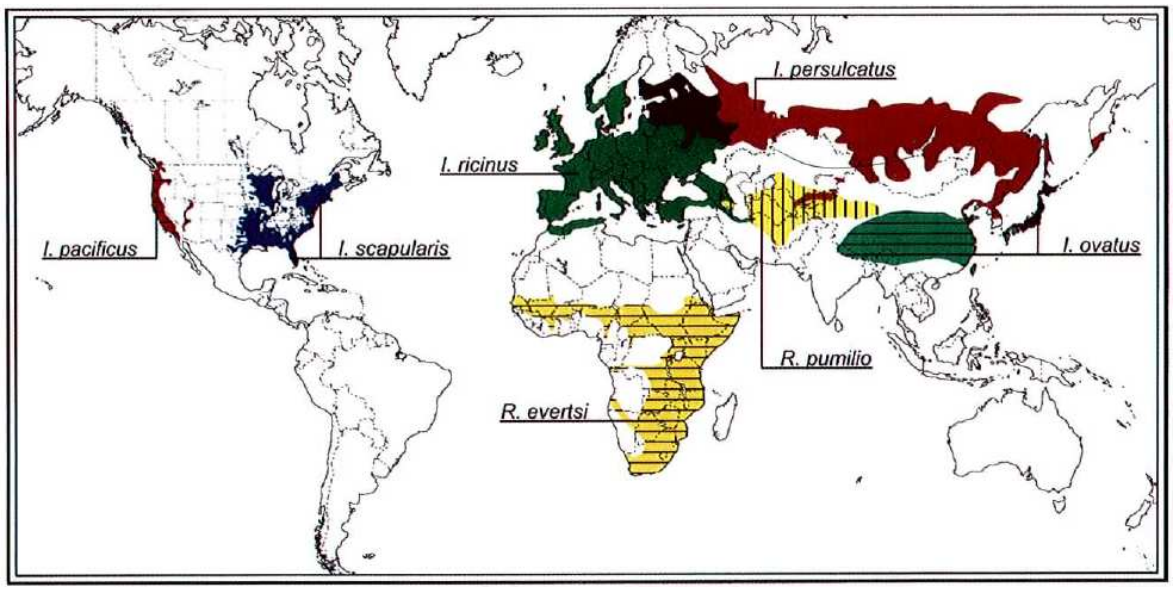


Figure 8 : Distribution géographique des principales espèces de tiques vectrices de la maladie de Lyme.
Issue de Goodman et collaborateurs (2005).

La tique *I. ricinus*, appartenant à la famille des *Ixodidae* (ou tiques dures) (Estrada-Peña and Venzal 2006), est largement répandue dans toute l'Europe (Goodman 2005) (Figure 8). Elle possède trois stades de développement actifs : larve, nymphe et adulte (Figure 9). Son habitat optimal correspond à des zones boisées avec un fort taux d'humidité, des écotones, une litière abondante et des hôtes vertébrés disponibles pour effectuer ses repas sanguins (Pérez-Eid 2007). Elles sont présentes également dans des habitats plus ouverts, comme les pâtures le long des haies (Boyard et al. 2008). Les larves et les nymphes sont peu sélectives et se nourrissent sur les mammifères (petits et grands), les oiseaux ou les reptiles, alors que les adultes parasitent préférentiellement les grands mammifères, tel que le chevreuil (*Capreolus capreolus*) (Gern and Humair 2002).

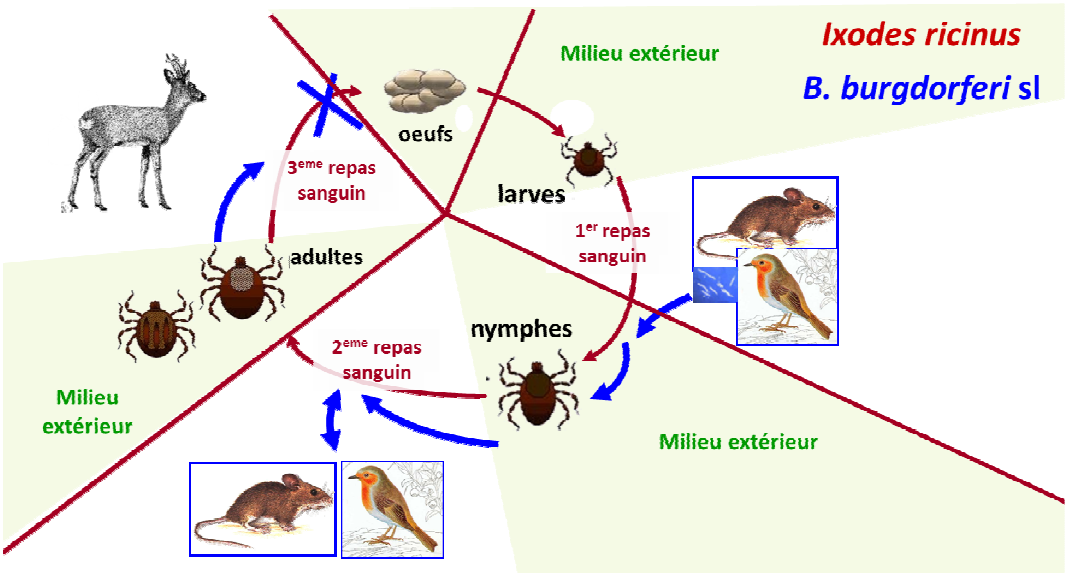


Figure 9 : Cycle de vie des tiques *I. ricinus* associé à celui de *B. burgdorferi* sl.
Les tiques (en rouge) s'infectent en se nourrissant sur des hôtes réservoirs infectés au stade de larve (ou de nymphe) et transmettent l'infection en B. burgdorferi *sl (en bleu) à des réservoirs au stade de nymphe (ou d'adulte).*

Le complexe *B. burgdorferi* sl est subdivisé à l'échelle mondiale en 19 espèces (Casjens et al. 2011, Margos et al. 2011), parmi lesquelles neuf ont été observées en Europe (Figure 10) :

- *B. burgdorferi* sensu stricto (ss) (Johnson et al. 1984, Baranton et al. 1992) ;
- *Borrelia afzelii* (Canica et al. 1993) ;
- *Borrelia garinii* (Baranton et al. 1992) ;
- *Borrelia valaisiana* (Wang et al. 1997) ;
- *Borrelia bavariensis*, décrite récemment par Margos et collaborateurs (2009) ;
- *Borrelia lusitaniae* (Fleche et al. 1997) ;
- *Borrelia spielmanii* (Richter et al. 2006) ;

- *Borrelia bissettii* (Postic et al. 1998) ;
- *Borrelia finlandensis*, décrite récemment par Casjens et collaborateurs (Casjens et al. 2011).

Les cinq premières espèces sont pathogènes pour l'homme, chacune avec des manifestations cliniques distinctes (van Dam et al. 1993). La pathogénicité des autres espèces est moins claire même si certaines ont été isolées d'échantillons humains (Derdakova and Lencakova 2005).

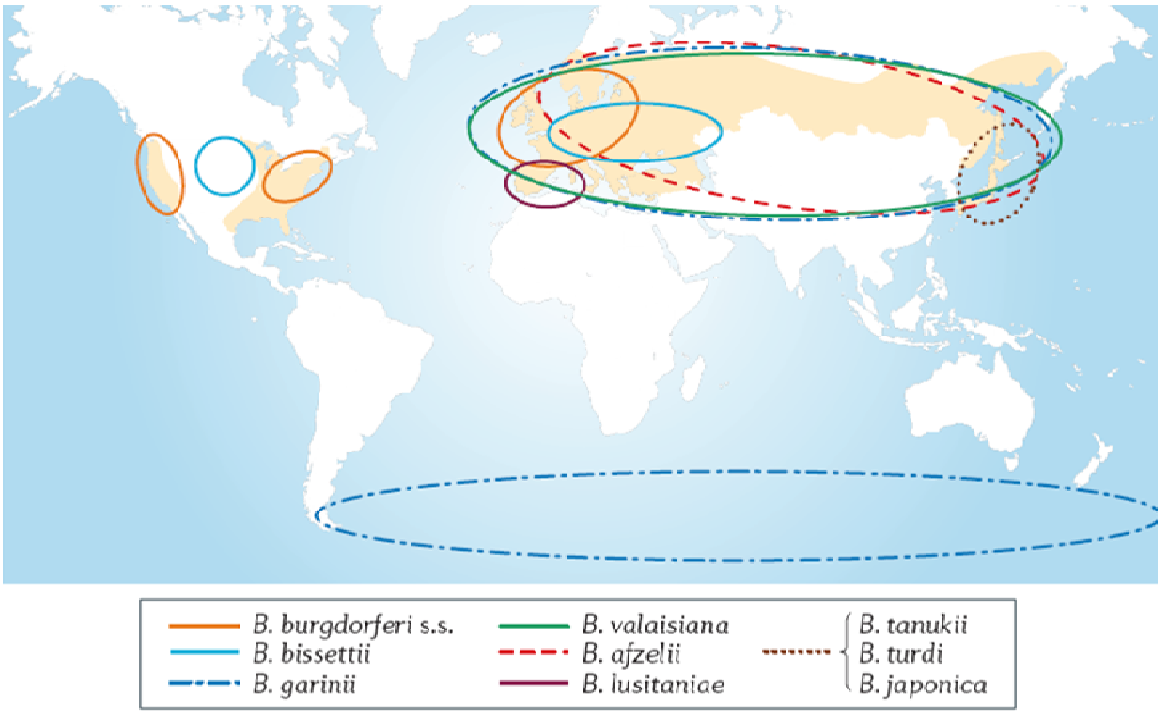


Figure 10 : Distribution géographique des principales espèces de *B. burgdorferi* sl.
La surface en beige correspond à la répartition géographique des cas cliniques de borréliose de Lyme. Carte issue de Kurtenbach et collaborateurs (2006).

Les études sur l'écologie de la maladie de Lyme ont montré que la persistance de *B. burgdorferi* sl dans des zones endémiques requiert l'implication d'espèces hôtes réservoirs, principalement parmi les oiseaux et les petits rongeurs (Olsen et al. 1995, Humair et al. 1999, Taragel'ovà et al. 2008). Contrairement à la principale espèce pathogène d'Amérique du nord, *B. burgdorferi* ss, les espèces européennes tendent à se spécialiser pour certains taxons vertébrés (Kurtenbach et al. 2006). Des associations spécifiques - avérées ou fortement suspectées - entre hôtes réservoirs et espèces de *B. burgdorferi* sl ont été observées :

- *B. afzelii* est associée aux petits rongeurs, notamment le mulot sylvestre (*Apodemus sylvaticus*), et le campagnol roussâtre (*Myodes glareolus*) (Humair et al. 1995, Hu et al. 1997),
- *B. burgdorferi* ss est associée aux petits rongeurs (Kurtenbach et al. 1998), ainsi qu'aux écureuils roux (Humair and Gern 1998),

- *B. garinii* et *B. valaisiana* sont associées aux oiseaux, principalement les passereaux, fréquentant le sol, et le faisan (*Phasianus colchicus*) (Olsen et al. 1995, Humair et al. 1998, Kurtenbach et al. 1998),
- *B. spielmanii* est associée au lérot (*Elyomys quercinus*), et plus récemment au hérisson (*Erinaceus europaeus*) (Richter et al. 2004, Skuballa et al. 2007),
- *B. lusitaniae* est associée aux lézards (principalement *Lacerta agilis* et *Podarcis muralis*) (Clark et al. 2005, Richter and Matuschka 2006, Amore et al. 2007),
- *B. bavariensis* semble être associée aux rongeurs en Europe (Huegli et al. 2002, Margos et al. 2009, Gern et al. 2010).

Les grands ongulés, tel le cerf (*Cervus elaphus*) ou le chevreuil, ne sont pas considérés comme des réservoirs de la maladie de Lyme (Telford et al. 1988, Gray et al. 1992, Jaenson and Tälleklint 1992, Tälleklint and Jaenson 1994).

Outre un gorgement sur un hôte infecté, les tiques peuvent également s'infecter de deux autres façons : (i) via la transmission transovarienne de *B. burgdorferi* sl, c'est-à-dire la transmission des adultes femelles aux œufs ; cette transmission est considérée rare et est très souvent négligée (Bellet-Edimo et al. 2005) et (ii) via la transmission par co-repas. La transmission par co-repas a lieu lorsqu'une larve s'infecte au moment du gorgement sur l'hôte par transmission locale de *B. burgdorferi* sl à partir d'une nymphe infectée se trouvant à côté de la larve (Gern and Rais 1996), sans passage de l'infection par l'hôte.

2. LE TAMIA DE SIBERIE

Le tamia de Sibérie (*T. sibiricus* Laxmann, 1769) est un Sciuridé originaire d'Asie. Son aire de répartition d'origine s'étend sur plus de 40° de latitude (du 70ème au 30ème degré de latitude nord) et sur 130° de longitude en Eurasie de la Mer Blanche à la Mer d'Okhotsk, notamment en Sibérie, en Mandchourie, au nord de la Mongolie, en Chine centrale et orientale, en Corée et sur l'île d'Hokkaido au Japon (Ognev 1940, Obolenskaya 2009, Figure 11).

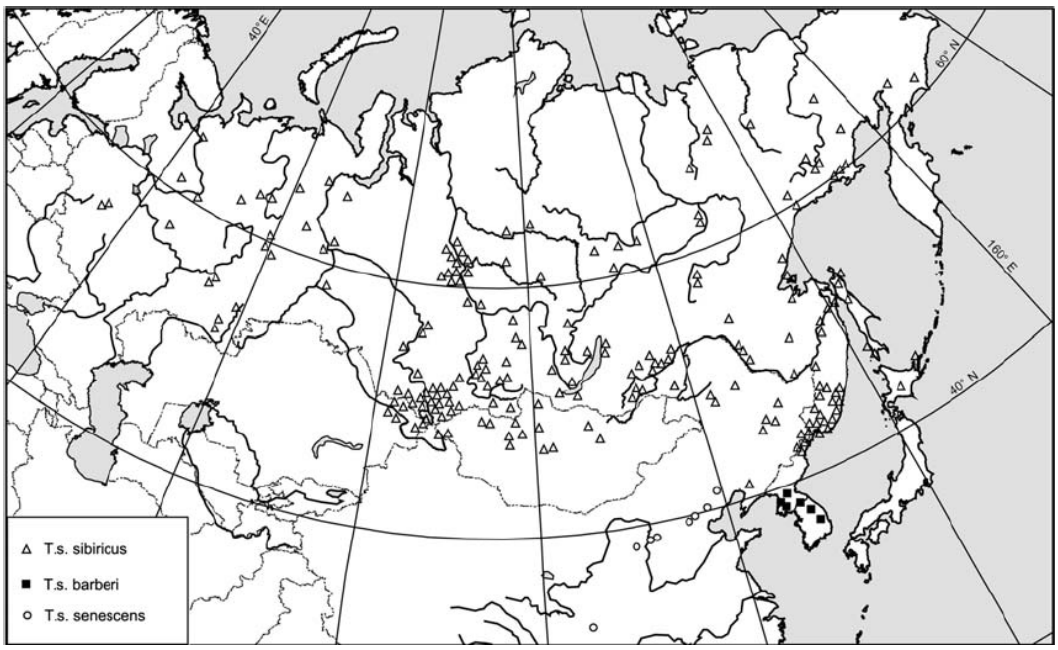


Figure 11 *:* **Distribution du tamia de Sibérie sur son aire d'origine.**
Cette figure est extraite de la synthèse d'Obolenskaya (2009).

En France, les tamias importés sont originaires de Corée et appartiennent à la sous-espèce *Tamias sibiricus barberi* (Lissovsky et collaborateurs, non publié, Koh et al. 2009, Obolenskaya et al. 2009). Vendus dans les animaleries en France depuis les années 1960, sous le nom d'écureuil de Corée, ces rongeurs sont difficiles à apprivoiser et à manipuler. D'un intérêt limité, certains propriétaires se sont lassés de leur compagnie, et les ont introduits dans des forêts péri-urbaines. Vingt-deux populations sont actuellement installées en Europe : onze en France, deux en Allemagne, trois en Italie, trois en Belgique, deux aux Pays-Bas et une en Suisse (Chapuis et al. 2011). Les onze populations localisées en France ont été recensées suite à deux enquêtes nationales réalisées en 2000 et 2005 auprès des agents de l'Office National des Forêts, d'associations de naturalistes, de collectivités territoriales et de particuliers. Ces populations sont situées (Figure 12) :

- en Ile-de-France : une en Essonne, quatre dans les Hauts-de-Seine, deux dans les Yvelines et une dans le Val d'Oise ;
- en Picardie : deux dans l'Oise et une dans la Somme.

Des échecs d'installation ou des observations ponctuelles ont aussi été rapportées dans d'autres départements (Moselle, Pas-de-Calais, Lozère, Haute-Savoie, Loire-Atlantique, Val-de-Marne, Paris, Chapuis 2005, Marmet and Chapuis 2008).

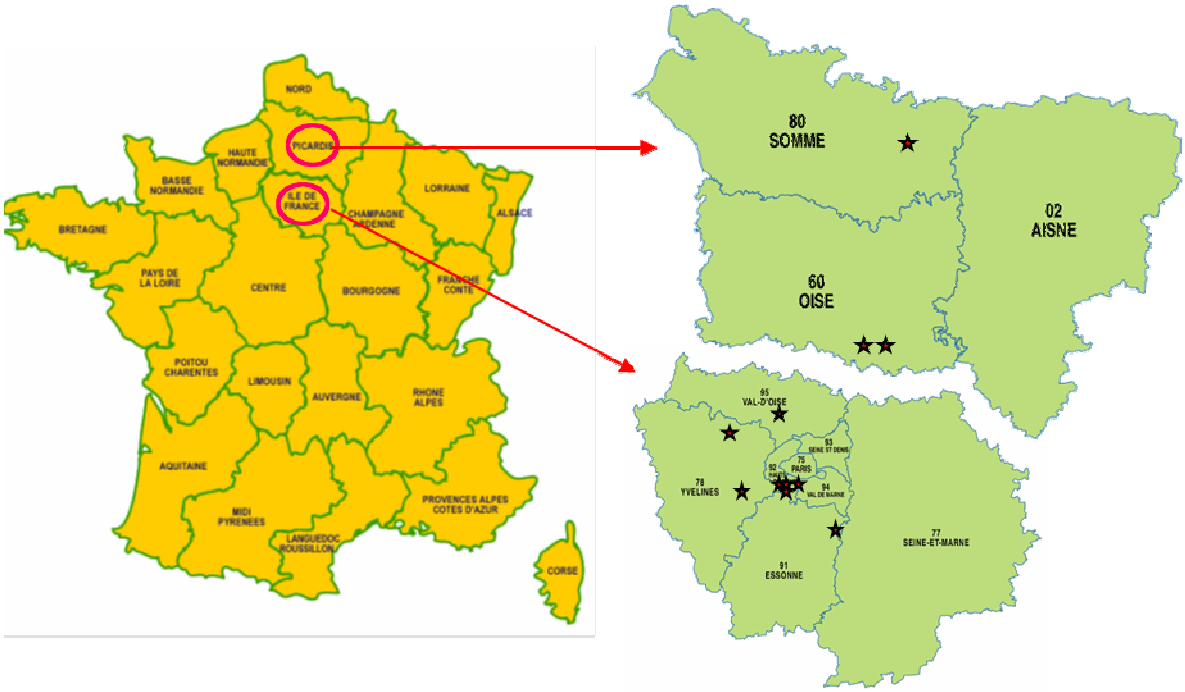


Figure 12 *:* **Répartition des onze populations de tamias de Sibérie établies en France.**
D'après Marmet et collaborateurs (2008).

Les caractéristiques et la biologie de reproduction de l'espèce sont présentées dans la fiche descriptive suivante et sur la Figure 13 (J. Marmet et J.-L. Chapuis, non publié).

Biologie et écologie de l'Ecureuil de Corée, ou Tamia de Sibérie (*Tamias sibiricus*)

Systématique

- Noms communs : Tamia de Sibérie, Ecureuil de Corée, Ecureuil japonais
- Ordre : Rongeurs
- Famille : Sciuridés
- Genre : *Tamias* Illiger, 1811 (classé avant parmi les *Eutamias* Trouessart, 1880)
- Espèce : *T. sibiricus* Laxmann, 1769
- Sous-espèce : 3 à 9 sous-espèces différenciées selon les auteurs. Celle présente en France serait (pour les 4 populations étudiées) la sous-espèce de Corée : *T. sibiricus barberi* Johnson & Jones, 1955.
- Espèce proche : *Tamias striatus* Linné 1758 (Amérique du Nord)

Répartition

- Monde : Eurasie, de la Mer Blanche à la Mer d'Okhotsk, en Sibérie, en Mandchourie, au nord de la Mongolie, en Chine centrale et orientale, en Corée du Nord et du Sud et au Japon (île d'Hokkaido).
- Europe : vendu dans les animaleries à partir des années 1960 et présent dans la nature quelques années plus tard. Présence de populations naturalisées : aux Pays-Bas (2), en Belgique (3), Allemagne (2), Italie (3), Suisse (1) et France (11).
- France : huit populations en Ile-de-France et de trois en Picardie ; populations établies depuis au moins une décennie.

Morphologie (adulte)

- Poids : 100 ± 1 g [80-127 g]
- Longueur tête-corps : 149 ± 1 mm [137-163 mm]
- Longueur de queue : 109 ± 2 mm [84-125 mm]
- Longueur du pied postérieur : 36,4 mm [33-41 mm]
- Longueur de l'oreille : 16,3 mm [14,0-18,5 mm]
- Formule dentaire : i 1/1, c 0/0, p 2/1, m 3/3, total 22.

Pelage

Dos brun-gris, avec cinq raies noires ou marron-foncé, ventre blanc ; barre sombre au niveau de l'œil ; queue grise avec une raie noire centrale et deux latérales. Une mue annuelle (printemps-été).
Absence de dimorphisme sexuel. Jeunes identiques aux adultes (gabarit excepté).

Habitat

- Eurasie : forêts de conifères, forêts mixtes avec sous-bois, bosquets en bordure de champs cultivés.
- Europe : forêts de feuillus (chênaies, châtaigneraies, charmaies) et forêts mixtes, feuillus-conifères ; parcs et jardins publics.

Rythme d'activité

Diurne, actif du lever au coucher du soleil, plus particulièrement en milieu de matinée et après-midi.
Hiberne dans son terrier, 5 à 7 mois dans les régions froides, interrompant son sommeil périodiquement pour consommer de la nourriture stockée dans son terrier.
En Europe de l'Ouest (France), hibernation limitée à 4-5 mois. Hiberne généralement seul, les femelles adultes entrant en hibernation les premières, suivies par les mâles adultes, les jeunes femelles puis les jeunes mâles. Au printemps, sortie des mâles environ 2 semaines avant les femelles.
Baisse d'activité au cours de l'été (août).

Comportement et domaine vital

Animal solitaire se déplaçant principalement au sol, mais explorant aussi la canopée.
Fréquente un terrier à une entrée de 5 cm de diamètre, d'une galerie de 1 à 2 m de longueur, allant jusqu'à 1,5 m de profondeur, lui servant de refuge, de lieu de mise-bas, de garde-manger et de site d'hibernation. Du printemps à la fin de l'automne, il change fréquemment de terriers.
Le nid est constitué de feuilles sèches coupées grossièrement et de graminées qu'il transporte dans sa gueule.
Son activité est centrée autour de son terrier, a priori défendu vis-à-vis de ses congénères. La surface du domaine vital varie selon les sexes, les disponibilités trophiques, le stade de reproduction… ; en France (Forêt de Sénart), 1,9 ± 0, ha pour les mâles et 0,7 ± 0,1 ha pour les femelles ; chevauchement des domaines vitaux d'individus de même sexe, et entre les sexes.
Avant accouplement, les femelles en œstrus vocalisent, émettant des "chip" en série. En cas de danger (prédateurs), ils émettent des cris d'alarme, notamment à la période d'émergence des jeunes.

Reproduction

- Accouplements : de fin février à la mi-août en Europe, avec un pic en mars, et un second la 2ème quinzaine de juin ; de mi-avril à mi-mai au Japon.
- Durée de gestation : 30-31 jours.
- Nombre de jeunes/portée : 4 à 5 (1 à 8) (huit mamelles), la fécondité des femelles augmentant avec l'âge. Nus, sourds et aveugles à la naissance, ils demeurent 6 à 8 semaines dans leur terrier.
- Nombre de portées par an : 1 ou 2 selon l'âge des femelles et la région géographique. En France, émergence des jeunes de la 1ère cohorte en mai-juin et de ceux de la 2nde cohorte, en septembre.
- Sexe-ratio : pas différent de 1:1 au sevrage.
- Maturité sexuelle : entre 8 et 11 mois pour les deux sexes.

- Longévité : 5 à 6 ans en nature, jusqu'à 12 ans en captivité.

Dispersion

Dispersion des jeunes 2 à 3 semaines après leur sortie du terrier ; installation à des distances variant entre quelques dizaines et quelques centaines de mètres selon le sexe des individus, la densité, les caractéristiques du milieu (ressources alimentaires, abris…).
Les adultes montrent une grande fidélité au site d'une année sur l'autre.
Lors de l'installation des populations en forêts de Meudon et de Sénart ou dans la Somme, vitesse de colonisation estimée à 250 m/an.

Densité

Densité localement élevée, pouvant atteindre une dizaine d'individus/ha ; certains massifs d'Ile-de-France, comme la Forêt de Sénart, Essonne (3200 ha), accueillent plus de 10 000 individus.

Alimentation

Rongeur omnivore, disposant de grandes abajoues lui permettant d'amasser sa nourriture.
Régime principal : fruits secs (châtaigne, gland, faîne, noisette, fruit du charme, du tilleul,…), bourgeons, baies, fleurs et graines d'espèces herbacées, insectes.
Régime occasionnel : œufs et oisillons, champignons, mollusques, amphibiens, reptiles…
En automne, fruits secs enterrés au hasard de ses déplacements, et surtout entreposés dans son terrier (consommés durant la phase d'hibernation).

Prédation

- En Eurasie : différentes espèces de Mustélidés et de rapaces diurnes ; renard roux (*Vulpes vulpes*), lynx (*Lynx lynx*), chat sauvage (*Felis silvestris*)….
- En France : buse variable (*Buteo buteo*), belette (*Mustela nivalis*), et surtout chat domestique.

Parasites

- Ectoparasites : une espèce de pou, de nombreuses espèces de puces et de tiques sur son aire d'origine. En France : présence d'un pou introduit avec son hôte (*Enderleinellus tamiasis*), de sept espèces de puces (commune à la faune de France) dont la principale est *Ceratophyllus s. sciurorum*, puce de l'Ecureuil roux (*Sciurus vulgaris*), d'aoûtats et de 4 espèces de tiques (*Ixodes ricinus, I. acuminatus, I. trianguliceps, Dermacentor reticulatus*), vecteurs potentiels de différentes bactérioses, dont *Borrelia burgdorferi* s.l. (maladie de Lyme*)* et viroses.
- Endoparasites : présence de *Brevistriata skrjabini* et de *Strongyloides callosciureus,* nématodes connus chez le tamia en Eurasie et introduit en France ; en Ile-de-France, présence également de nématodes, notamment *Aonchotheca annulosa)*, ainsi que de protozoaires intestinaux connus chez les rongeurs forestiers.

Relations interspécifiques

Les données disponibles actuellement demeurent trop imprécises pour apprécier les conséquences de l'introduction du tamia sur les autres rongeurs et plus spécialement sur l'écureuil roux. Si des relations de compétition alimentaire sont possibles, d'autres interactions peuvent être envisagées, par exemple sur le plan parasitaire.

Dégâts

Sur son aire de répartition originelle, les effectifs sont localement importants au point de causer des dégâts aux cultures céréalières ou de tournesol, amenant à le considérer comme un nuisible.

Impact sur le plan de la santé humaine

Une des principales conséquences de l'introduction du tamia sur le plan de la santé humaine est le rôle important de ce rongeur en tant que réservoir des bactéries responsables de la maladie de Lyme. De plus, il héberge un grand nombre de tiques (fréquemment plusieurs centaines) de l'espèce *I. ricinus*, vecteur de cette maladie. Ainsi, le tamia est suspecté de jouer un rôle dans la prévalence de la borréliose de Lyme chez l'homme.

Statut de l'espèce

Espèce naturalisée, sans statut en France.
Seul Sciuridé dont la vente dans les animaleries est autorisée. Toutefois, un propriétaire ne peut détenir pas plus de 6 individus sans capacité de détention.

Références bibliographiques

Amori, G. & Gippoliti, S. 1995. Siberian chipmunk *Tamias sibiricus* in Italy. *Mammalia*, 59: 288-289.

Bannikov, A.G. 1954. [Mammals of the Mongolian Peoples' Republic]. Moscow: Izdatelstvo Akademii Nauk SSSR, 669 pp. In Russian.

Beaucournu, J.-C., Pisanu, B. & Chapuis, J.-L. 2008. *Enderleinellus tamiasis* Fahrenholz, 1916 (Anoplura : Enderleinellidae), espèce importée, implantée et nouvelle pour la Faune de France. Parasite, 15: 175-178.

Bertolino, S. & Genovesi, P. 2005. The application of the European strategy on invasive alien species: an example with introduced squirrels. Hystrix It. J. Mamm. (n.s.), 16: 59-69.

Bertolino, S., Currado, I., Mazzoglio, P.J. and Amori, G. 2000. Native and alien squirrels in Italy. *Hystrix It. J. Mamm.*, 11: 49-58.

Blake, B.H. & Gillett, K.E. 1988. Estrous cycle and related aspects of reproduction in captive Asian chipmunks, *Tamias sibiricus*. *J. Mamm*. 69: 598-603.

Blake, B.H. 1992. Estrous calls in captive Asian chipmunks, *Tamias sibiricus*. *J. Mamm*., 73, 597-603.

Boyer, N., Réale, D., Marmet, J., Pisanu, B. &. Chapuis, J.-L. 2010. Temperament, space use and tick load in a introduced population of Siberian chipmunk, *Tamias sibiricus*, introduced in a French suburban forest. *J. Animal Ecol. (*in press).

Chapuis, J.-L. 2005. Répartition en France d'un animal de compagnie naturalisé, le Tamia de Sibérie (Tamias sibiricus). *Rev. Ecol. (Terre Vie*), 60 : 239-253.

Chernyavskiy, F.B. 1984. [Mammals of extreme North-East of Siberia]. Moscow: Nauka, 388 pp. In Russian.

Dijkstra, V. & Dekker, J. 2008. Risico-assessment uitheems eekhoorns. VZZ rapport 2008.10. Zoogdiervereniging VZZ, Arnhem.

Dozières, A. 2008. Conséquences de l'introduction du tamia de Sibérie (*Tamias sibiricus*) en forêt de Sénart (Essonne). Relations tamia-rongeurs et tamia-borréliose de Lyme. Rapport Master 2, EBE, Univ. Paris Sud-11/MNHN, 42 p.

Durette-Desset, M.C. 1970. *Brevistriata bergerardi*, nouveau nématode heligmosome, parasite d'un écureuil de Corée. *Bull. Mus. natn. Hist. nat*, 42 : 419-423.

Fernandez, H. 1995. *Tamias sibiricus* (Laxmann, 1769). Pp. 236-238, in J. Hausser (ed.)*, Mammifères de la Suisse. Répartition, biologie, écologie*. Commission des

mémoires de l'Académie suisse des sciences naturelles, Birkhäuser Verlag, Basel.
Forstmeier, W. & Weiss, I. 2002. Effects of nest predation in the Siberian chipmunk *Tamias sibiricus* on success of the dusky warbler *Phylloscopus fuscatus* breeding. *Zoologichesky Zhurnal*, 81: 1367-1370 [en russe].
Geinitz, C. 1980. Beiträge zur Biologie des Streifenhörnchens (*Eutamias sibiricus* Laxmann, 1769) auf einem Friedhof in Freiburg (Süddeutschland). *Z. Säugetierkunde*, 45: 279-287.
Jaeger, R. 1974. Die unterschieldliche Dauer von Schalf- und Wachphasen während einer Winterschlafperiode des Burunduk, *Tamias (Eutamias) sibiricus* Laxmann, 1796. *Z. Säugetierkunde*, 39: 10-15.
Jaouen, Y. & Léger, F. 2005. Signalements du Tamia de Sibérie *Tamias sibiricus* dans le département de la Somme. *Arvicola* 17 : 8.
Jouanin, C. 1986. Une espèce inattendue pour la faune française : un écureuil asiatique acclimaté sur le Cap d'Antibes. *Revue d'Ecologie (Terre Vie),* 41 : 107-109.
Kawamichi, M. 1980. Food, food hoarding and seasonal changes of Siberian chipmunks. *Jpn. J. Ecol*., 30: 211-220.
Kawamichi, M. 1989. Nest structure dynamics and seasonal use of nests by Siberian chipmunks (*Eutamias sibiricus*). *J. Mamm*., 70: 44-57
Kawamichi, M. 1996. Ecological factors affecting annual variation in commencement of hibernation in wild chipmunks (*Tamias sibiricus*). *J. Mamm*., 77: 731-744
Kawamichi, T. & Kawamichi, M. 1993. Gestation period and litter size of Siberian chipmunk *Eutamias sibiricus* in Hokkaido, northern Japan. *J. Mamm. Soc. Jpn*, 18: 105-109.
Kawamichi, T., M. Kawamichi, and R. Kishimoto. 1987. Social organization of solitary mammals. Pp. 173-188 *in* Y. Ito, J.L. Brown and J. Kikkawa (Eds). Animal societies: theories and facts. Japan Science Society Press, Tokyo.
Keyser De, B. 1983. L'Ecureuil de Corée, *Eutamias sibiricus*, Laxmann (Rodentia, Sciuridae) en Forêt de Soignes. Les Naturalistes Belges, 64: 15-20.
Koh, H.S., Wang; J., Lee, B.K., Yang, B.G., Heo, S.W., Jang, K.H., Chun, T.Y. (2009) A phylogroup of the Siberian Chipmunk from Korea (*Tamias sibiricus barberi*) revealed from the mitochondrial DNA cytochrome b gene. Biochem. Genet. 47: 1-7.
Marmet, J. & Chapuis, J.-L. 2007. Répartition de l'Ecureuil de Corée (*Tamias sibiricus*), animal de compagnie exotique introduit en France : résultats de l'enquête nationale de 2005. Pp : 27-31, *in* : L. Tillon (éd), *Les mammifères forestiers*, Actes du 28ème Colloque de la SFEPM, 21-23 oct. 2005, Rambouillet (78), Coll. dossiers forestiers, n° 18.
Marmet, J. 2008. *Traits d'histoire de vie du Tamia de Sibérie* Tamias sibiricus*, espèce exotique naturalisée dans la forêt de Sénart (Essonne): démographie, biologie de la reproduction, occupation de l'espace et dispersion*. PhD, MNHN, 18 déc. 2008, 171 p.
Marmet, J., Pisanu, B. & Chapuis, J.-L. (2009). Home range, range overlap and site fidelity of introduced Siberian chipmunks in a suburban French forest. *European Journal of Wildlife Research*, 55: 497-504.
Marsot, M. (2008). Dynamique temporelle de l'infection des petits rongeurs par l'agent de la maladie de Lyme (*Borrelia burgdorferi* sl) en forêt de Sénart. Master 2 ME, Univ. Cl. Bernard, Lyon 1, 34 p.
Matsui, T., Fujino, T., Kajima, J. & Tsuji, M. 2000. Infectivity to experimental rodents of *Cryptosporidium parvum* oocysts from Siberian chipmunks (*Tamias sibiricus*) originated in the People's Republic of China. J. Vet. Med. Sc., 62 : 487-489.
Murakami, T. 2003. Food habits of the Japanese sable *Martes zibellina brachyura* in eastern Hokkaido, Japan. Mammal Study, 28: 129-134.
Nadler, C.F., Hofmann, R.S. , Lay, D.M. 1969. Chromosomes of the Asian Chipmunk *Eutamias sibirucus* Laxmann (Rodentia: Sciuridae). Cellular and Molecular Life Sciences, 25: 868-869.
Obolenskaya, E.V. 2008. [Distribution patterns of the Siberian chipmunk (*Tamias sibiricus* Lamann, 1769)]. In: Pavlinov, I.Y. and Kalykin, M.V., eds. Zoological researches. Moscow, Russia: Moscow Univ. Publ., 49: 265-279 In Russian with English summary.
Obolenskaya, E.V., Lee, M., Dokuchaev, N.E., Oshida, T. and Lissovsky, A.A. 2009. The diversity of Palaearctic chipmunks (Tamias, Sciuridae). Mammalia, 73: 281-298.
Ognev, S.I. 1940. [Mammals of the USSR and Adjacent Countries]. Vol. 4. Moskva-Leningrad: Izdatel'stvo AN SSSR, 616 pp. In Russian.
Oshida. T and Yanagawa, H., 2002. [Alien squirrels in Handbook of alien species in Japan]. Ecological Society of Japan. Tokyo, Japan: Chijin Shokan, 67 pp. In Japanese.
Pisanu, B., Jérusalem, C., Huchery, C., Marmet, J. & Chapuis, J.-L. 2007. Helminth fauna of the Siberian chipmunk, *Tamias sibiricus* Laxmann (Rodentia, Sciuridae) introduced in suburban French forests. *Parasitology Research*, 100: 1375-1379.
Pisanu, B., Lebailleux, L. & Chapuis, J.-L. 2009. Why Siberian chipmunks *Tamias sibiricus* (Sciuridae) introduced in French forests acquired so few intestinal helminth species from native sympatric Murids? *Parasitology Research*, 104: 709-714.
Pisanu, B., Marmet, J., Beaucournu, J.C. & Chapuis, J.-L. 2008. Diversité du cortège en Siphonaptères chez le tamia de Sibérie (*Tamias sibiricus* Laxmann) introduit en Forêt de Sénart (Ile-de-France). *Parasite*, 15 : 35-43.
Pisanu, B., Marsot, M., Marmet, J., Chapuis, J-L., Réale, D. Vourc'h, G. Infestation by Ixodids on introduced and native sylvatic rodents. *International Journal of Parasitology (soumis*).
Riegel, J., Lafontaine, R-M., Pasteels, J. & Devillers, P. 2000. Influence potentielle du Tamia de Sibérie *Tamias sibiricus* (Laxmann) sur la régression de l'avifaune en Forêt de Soignes. Cahiers d'Ethologie, 20:45-62.
Telegin, V.N. 1980. [Chipmunk of Western Siberia]. Novosibirsk: Nauka, 112 pp. In Russian.
Verbeylen, G. 2002. Asian chipmunks in De Panne (Belgium): is a population explosion likely? Pages 239-240, *in : Proceedings of the symposium 'Status and trends of the Belgian fauna with a particular emphasis on alien species'* (M. Peeters & J.L. Van Goethem), Bulletin de l'Institut Royal des Sciences naturelles de Belgique, Biologie, 72-suppl., KBIN, Brussels, Belgium.
Vourc'h, G., Marmet, J., Chassagne, M., Bord, S. & Chapuis, J.-L. (2007). *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Siberian chipmunks (*Tamias sibiricus*) introduced in suburban forests in France. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases,* 7: 637-642
Zhaltsanova, D.S.D & Shalaeva, N.M. 1990. Ecological peculiarities of helminthfauna of rodents of squirrels family (Rodentia: Sciuridae) in Zabaikalie. Helminthologia, 27: 217-223.

Pour plus d'information, voir CHAPUIS, J.-L., OBOLENSKAYA, E., PISANU, B. & LISSOVSKY, A. (2011). Datasheet on Tamias sibiricius. CABI, Wallingford, UK. http://www.cabi.org/isc

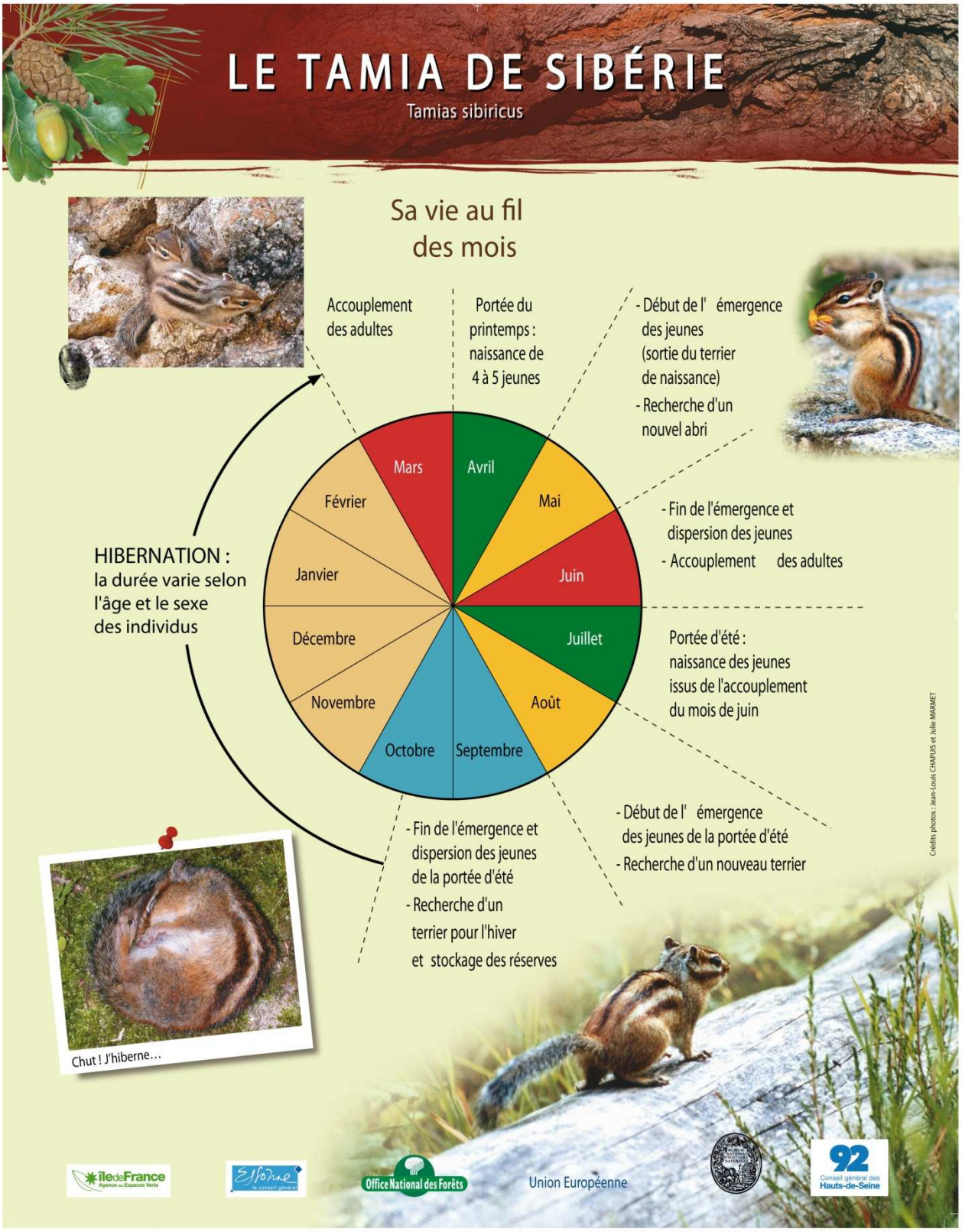


Figure 1 : Biologie de la reproduction du Tamia de Sibérie

3. LES SITES D'ETUDE

3.1. La Forêt de Sénart

La Forêt de Sénart est une forêt périurbaine d'Ile-de-France, à cheval sur les départements de Seine-et-Marne (77) et de l'Essonne (91). Elle est située à 22 km au sud-est de Paris (Figure 14). Cette forêt, d'une superficie de 3 200 ha (N 48°41'53"- 48°38'19" ; E 2°32'55"- 2°24'54"), est fréquentée par plus de 3 millions de visiteurs par an (Maresca 2000). La forêt se situe sur un plateau de faible altitude (82 m en moyenne). Les sols sont de type sableux-argileux, caillouteux, très hydromorphes, moyennement épais sur cailloutis. Les écarts thermiques sont peu importants entre l'été et l'hiver. Les précipitations sont relativement constantes tout au long de l'année. Le groupement dominant de cette forêt est la chênaie-charmaie, avec localement du châtaignier. Ce type de végétation est un habitat favorable des tiques *I. ricinus* et abrite les différents hôtes des tiques, des petits rongeurs aux grands mammifères, ainsi que des oiseaux.

En Forêt de Sénart, les premiers tamias ont été observés au début des années 1970 (J.-L. Chapuis, com. pers.). Trente ans plus tard, en 1998-1999, ils colonisaient le Parc de la Faisanderie, situé à 5 km à l'est du point d'introduction. Sur cette période, leur vitesse de colonisation a été d'environ 250 m / an (Chapuis 2005). Cette forêt héberge aujourd'hui la plus grande population de tamias en France, estimée à plus de 10 000 individus (Chapuis et al. 2011). La partie sud-est du massif de la forêt, isolée par des routes à grande circulation, n'est pas encore colonisée par le tamia ou ne l'est que par de très rares individus. Dans cette forêt, nous avons échantillonné cinq sites à des périodes et des fréquences différentes.

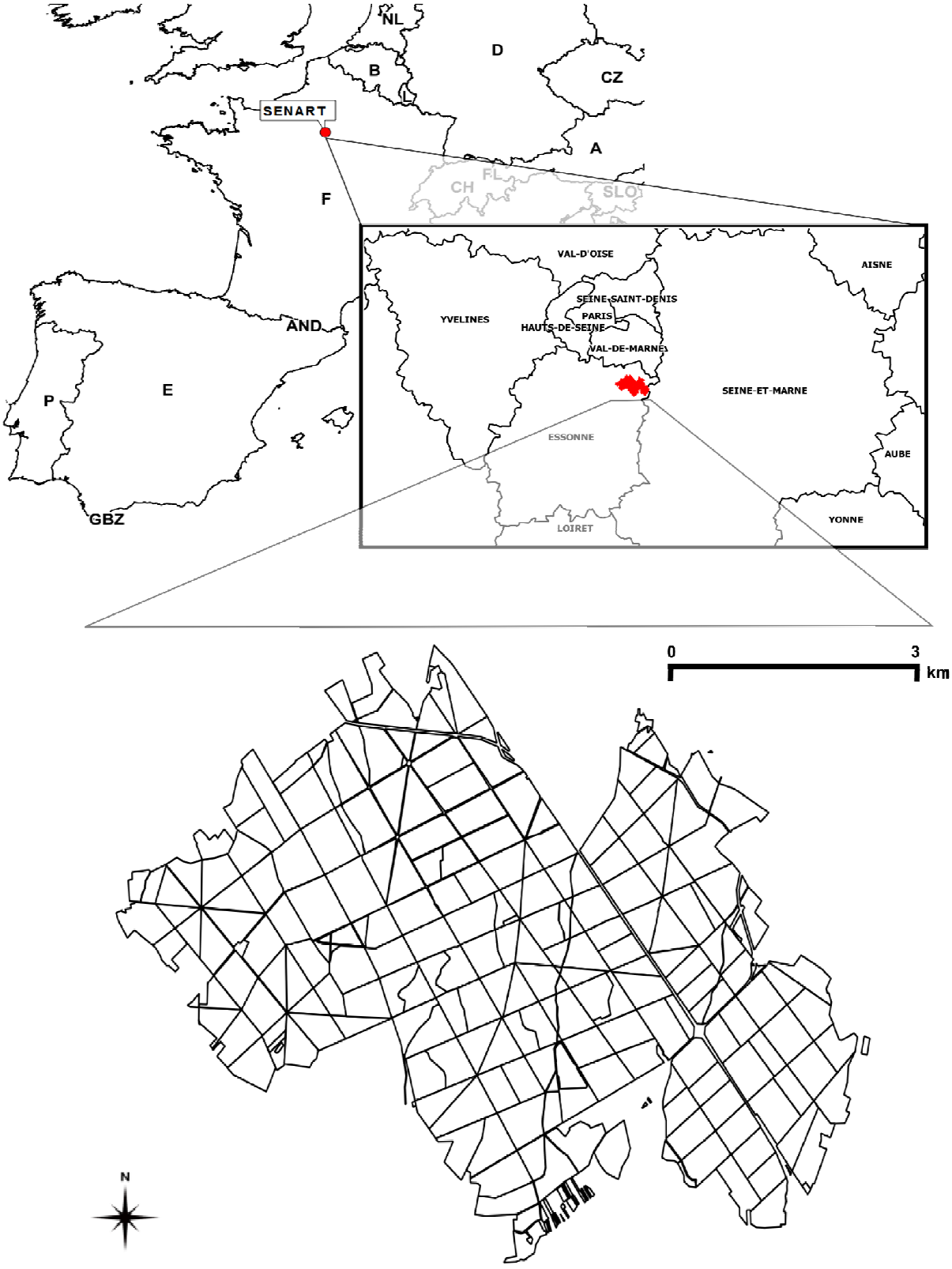


Figure 14 *:* Localisation de la Forêt de Sénart en Europe et en France.

3.2. Le Parc de la Faisanderie

Le Parc de la Faisanderie constitue le principal site d'étude du programme de recherche. Des prélèvements et piégeages ont été effectués de février - mars à octobre - novembre entre 2006 et 2010. Situé dans la partie sud de la forêt (parcelle MF05, Figure 15), il couvre une superficie de 12 ha. Centre d'information pour le grand public et pour les groupes scolaires, le Parc de la Faisanderie est géré par l'ONF. C'est aussi un lieu d'exposition de sculptures modernes. De ce fait, il est entouré d'une clôture. Il est constitué de bâtiments entourés de murs de pierres, d'une pelouse (1,5 ha), d'une chênaie ouverte (5 ha) et d'une chênaie-charmaie fermée (5,5 ha).

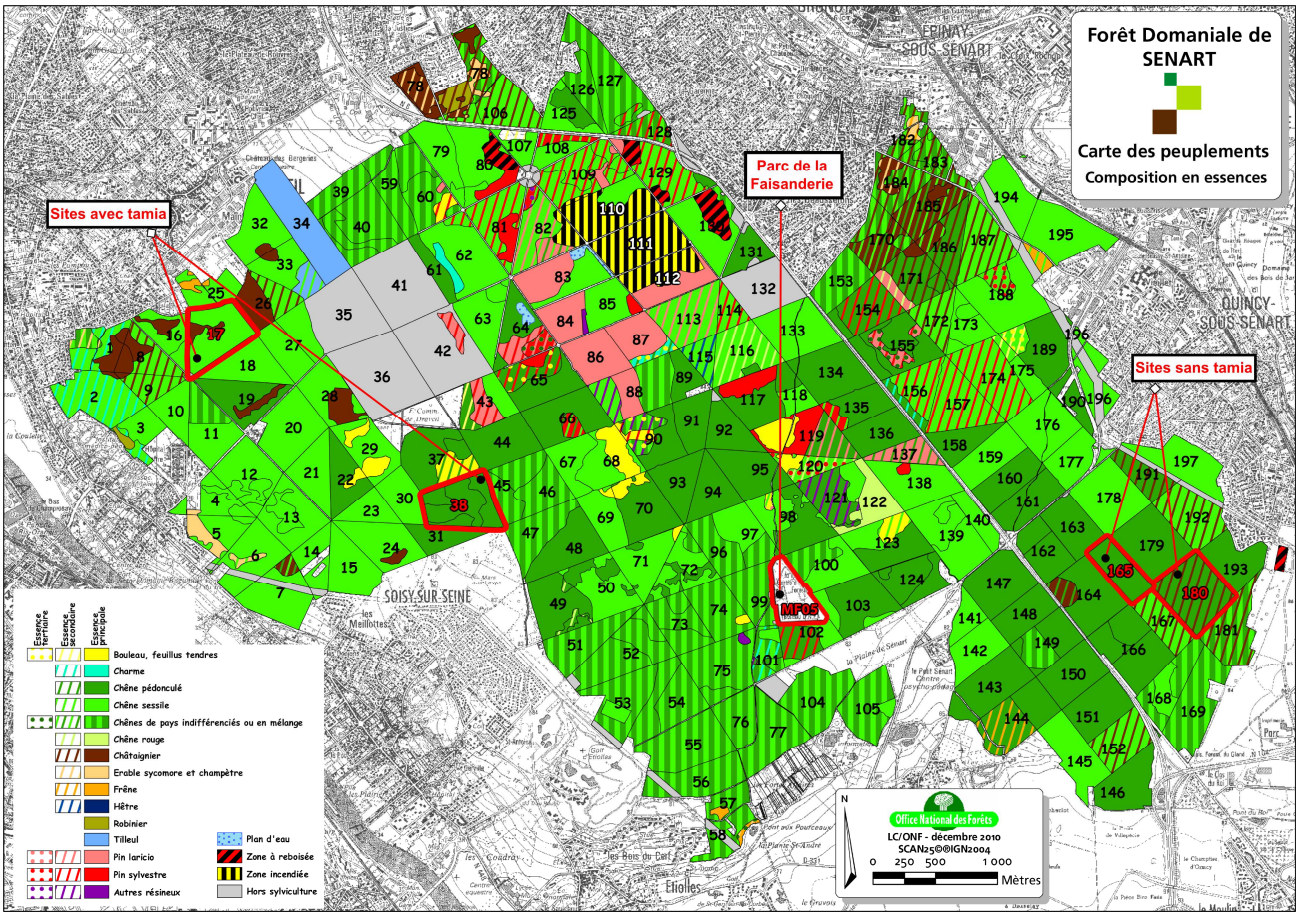


Figure 15 : Localisation des différents sites d'étude en Forêt de Sénart.

Les groupements forestiers et la végétation présents sur le Parc de la Faisanderie ont été décrits par Marmet et collaborateurs (2009).

La chênaie ouverte est constituée :

- d'une strate arborescente ayant un recouvrement au sol (R) d'environ 70 %, dominée par les chênes (*Quercus robur*¸ *Q. petraea*), avec la présence du charme (*Carpinus betulus*), du tilleul (*Tilia vulgaris*), du tremble (*Populus tremula*) et du pin sylvestre (*Pinus sylvestris*) ;
- d'une strate arbustive (R = 10 %), avec principalement du prunellier (*Prunus spinosa*), du noisetier (*Corylus avellana*) et de l'aubépine (*Crataegus monogyna*) ;
- d'une strate herbacée (80 < R < 100 %), constituée principalement de graminées et de nombreuses espèces de dicotylédones dont les ronces (*Rubus* gr. *fructicosus*) et le chèvrefeuille (*Lonicera periclymenum*).

La chênaie fermée est constituée :

- d'une strate arborescente (95 < R < 100%) dominée par les chênes et le charme, accompagnés du tilleul, de l'érable (*Acer pseudoplatanus*), du pin sylvestre, du merisier (*Prunus avium*), et rarement du châtaignier (*Castanea sativa*) et du hêtre (*Fagus sylvatica*) ;
- d'une strate arbustive constituée essentiellement par l'aubépine et d'une strate herbacée dominée par les ronces, le chèvrefeuille, le jacinthe-des-bois (*Endymnion non-scriptus*). Ces strates présentent un recouvrement de 5 à 80 % selon les parties du parc, en relation avec l'ouverture du milieu.

3.3. Les sites avec et sans tamias

Quatre autres sites ont été étudiés ponctuellement en Forêt de Sénart en 2008 (Dozières 2008) et 2009 (Figure 15) :

- deux sites 1 et 2 (parcelles 17 et 38) situés à l'ouest de la forêt (secteur du Chêne d'Antin), où le tamia est présent depuis une quarantaine d'années. La parcelle 17 est une chênaie-châtaigneraie, et la parcelle 38 une chênaie-charmaie.
- deux sites 3 et 4 (parcelles 165 et 180) situés au sud-est du massif (secteur du Gland), isolés par deux routes à grande circulation. Au début de notre étude, les tamias n'avaient pas encore colonisé ces sites et quelques rares individus étaient observés au cours des années suivantes. Dans la suite de notre travail, nous considèrerons ces sites comme étant "dépourvus" de tamia. La parcelle 165 est une chênaie-charmaie et la parcelle 180 une chênaie-châtaigneraie.

4. HOTES DES TIQUES ET HOTES RESERVOIRS DE *B. BURGDORFERI* SL EN FORET DE SENART

4.1. Les rongeurs

Les espèces de rongeurs dominantes en Forêt de Sénart sont le campagnol roussâtre et le mulot sylvestre. Ces deux rongeurs sont des réservoirs avérés de *B. burgdorferi* sl (Humair et al. 1999). Les fiches descriptives de ces deux espèces sont présentées ci-dessous. Ces fiches sont issues de la synthèse des informations données dans les descriptions du campagnol roussâtre et du mulot sylvestre de Le Louarn et Quéré (2003).

Encadré 2 : Biologie et écologie du campagnol roussâtre (*Myodes glareolus*)

Systématique
- Nom commun : Campagnol roussâtre
- Ordre : Rongeurs
- Famille : Muridés
- Genre : *Myodes* Pallas, 1811
- Espèce : *Myodes glareolus* Schreber, 1780

Répartition
Espèce présente des îles Britanniques jusqu'au Lac Baïkal. En Europe, elle atteint le cercle arctique mais se raréfie en zone méditerranéenne.

Morphologie (adulte)
- Poids : 23-40 g
- Longueur tête-corps : 94-109 mm
- Longueur de queue : 48-54 mm
- Longueur du pied postérieur : 17-19 mm
- Longueur de l'oreille : 11-13 mm

Pelage
Couleur rousse souvent brillante. Queue souvent terminée par un petit pinceau de poils noirs. Dos roux plus ou moins vif. Flancs grisâtres et ventre légèrement plus pâle avec des touches de jaune.

Habitat
Forêt à sous-bois moyennement dense. Préférentiellement dans des parcelles non exploitées (arbres morts demeurés en place et épaisse litière). Broussailles, ronciers et zones à fougères lui sont favorables. Habite aussi les marais boisés. Grande plasticité d'adaptation.

Densité
Densité varie de 6 à 12 individus/ha. Forte mortalité hivernale. Fortes fluctuations de populations liées à la qualité de l'habitat.

Rythme d'activité
Diurne et nocturne. Actif par période sur presque tout le nycthémère avec 2 phases principales d'activité : la plus importante au coucher du soleil, une seconde dans la moitié de la nuit.

Comportement et domaine vital
Domaine vital peu étendu. Ne semble pas dépasser 800m². Occupe un nid souterrain peu profond. Peut s'établir dans le bois pourri sous une souche.

Reproduction
Reproduction débute en février-mars, avec un maximum en juin et un ralentissement fin juillet pour se terminer en octobre.
- Nombre de jeunes/portée : 2 à 10
- Nombre de portées par an : 3 à 5
- Longévité : 2 à 3 ans en nature.

Alimentation
Rongeur granivore voire omnivore.
Feuilles, fleurs, bourgeons mais aussi fruits et graines. Au printemps, glands germés. A l'automne, champignons, semences. En hiver, mousse, écorce d'arbustes et lichens. Faible apport de nourriture d'origine animale (mollusques, insectes, vers…).

Prédation
Belette (*Mustela nivalis*), serpents, rapaces nocturnes.

Dégâts
Ecorçage de jeunes plants.

Encadré 3 : Biologie et écologie du mulot sylvestre (*Apodemus sylvaticus*)

Systématique
- Nom commun : Mulot sylvestre
- Ordre : Rongeurs
- Famille : Muridés
- Genre : *Apodemus* Kaup, 1829
- Espèce : *Apodemus sylvaticus* Linnaeus 1758

Répartition
Espèce présente en Europe, en Asie (absente du nord de la Scandinavie) et en Afrique du Nord.

Morphologie (adulte)
- Poids : 18-30 g
- Longueur tête-corps : 71-104 mm
- Longueur de queue : 75-101 mm
- Longueur du pied postérieur : 19-24 mm
- Longueur de l'oreille : 14-18 mm

Pelage
Coloration du gris au beige sur le dos. Flancs plus clairs et le ventre pas totalement blanc.

Habitat
Forêts de feuillus à sous-bois dense. Champs de céréales, prairies, talus plantés du bocage.

Densité
Densités comprises entre 1 ind. /ha et 50 voire 100 ind. /ha.

Rythme d'activité
Nocturne. Maximum d'activité au coucher du soleil et avant l'aube (fonction de la saison, de la disponibilité alimentaire, du sexe).

Comportement et domaine vital
Terrier peu profond avec 2 à 6 entrées.
Domaine vital en moyenne de 1000 à 2000m² (fonction de l'habitat et des ressources alimentaires.

Reproduction
Toute l'année. Naissance entre février et juin et entre août et novembre.
- Durée de gestation : 20 jours en moyenne.
- Nombre de jeunes/portée : 4 à 5 (2 à 9)
- Longévité : 2 à 3 ans en nature.

Alimentation
Rongeur granivore voire omnivore.

Prédation
Carnivores et rapaces

4.2. Les oiseaux

La communauté aviaire de la Forêt de Sénart est composée d'oiseaux forestiers communs, principalement de passereaux (Lustrat 2007). Si toutes les espèces présentes peuvent héberger *I. ricinus*, certaines seulement sont connues pour être réservoirs des agents de la maladie de Lyme, comme le merle noir (*Turdus merula*) ou encore le faisan (*Phasianus colchicus*) (Humair et al. 1993, Olsen et al. 1995, Humair and Gern 1998).

4.3. Les autres hôtes des tiques

Le chevreuil est l'hôte principal des tiques adultes, mais n'est pas réservoir des agents de la borréliose de Lyme (Telford et al. 1988, Jaenson and Tälleklint 1992). En Forêt de Sénart, l'ONF gère la population de manière à maintenir une densité d'environ 10 individus aux 100 ha. ; plus d'une centaine d'individus étant prélevés chaque année. Les densités en chevreuils sont

sensiblement équivalentes dans les parties ouest, nord et sud de la forêt. Elles sont très largement supérieures dans la partie est de la forêt (à l'est de la route nationale), car ces secteurs ne sont pas chassés régulièrement. Dans le Parc de la Faisanderie, le nombre de chevreuils a augmenté régulièrement entre 2007 et 2010. En 2007, 4 à 6 individus, de même que des sangliers (*Sus scrofa*), fréquentaient le parc, allant et venant en passant sous le grillage. En 2008 et 2009, la clôture a été aménagée de manière à empêcher la fréquentation du parc par les sangliers. De ce fait, les chevreuils présents dans le parc ne pouvaient en sortir et leur effectif a augmenté : 7 individus en 2008, 11 en 2009 et 16 en 2010.

Outre les chevreuils et les sangliers, les principaux autres mammifères rencontrés en Forêt de Sénart sont le renard (*Vulpes vulpes*), le lapin (*Oryctolagus cuniculus*), le lièvre d'Europe (*Lepus europaeus*), les musaraignes (*Sorex* spp et *Crocidura* spp), le hérisson (*Erinaceus europaeus*) et, parmi les reptiles, des lézards (*Podarcis muralis*). Tous ces animaux sont susceptibles d'héberger *I. ricinus*. Leur statut en tant que réservoir de *B. burgdorferi* sl est peu étudié, à part pour les lézards qui sont connus pour être réservoirs de *B. lusitaniae* et les hérissons pour *B. spielmanii*.

5. METHODES DE COLLECTE DE DONNEES ET D'ANALYSE BIOLOGIQUES

Le principe des méthodes utilisées est présenté ci-après, les détails des méthodes étant précisés soit dans les articles soit dans le corps de la thèse (Parties III et IV).

5.1. Nymphes à l'affût sur la végétation

5.1.1. Collecte des nymphes à l'affût

Sur les sites d'études, des collectes de nymphes à l'affût ont été effectuées avec la méthode du drapeau (Vassallo et al. 2000). Le "drapeau" est constitué d'une pièce de tissu clair, généralement de 1 m^2, dans laquelle est passée une tringle munie d'une corde. Le drapeau est tiré par un préleveur marchant d'un pas lent et régulier sur la surface d'expérimentation à échantillonner, sur une longueur de 10 m (soit 10 m^2). Les tiques, confondant le drapeau avec un hôte, s'accrochent sur le tissu. Elles sont dénombrées par stade de développement (larve, nymphe, adulte) ; les nymphes et adultes sont récoltées. Dans le Parc de la Faisanderie, les deux zones (chênaie fermée et chênaie ouverte, Figure 17) ont été échantillonnées entre 2007 et 2010 mensuellement entre mars et octobre. Sur chacune de ces zones, 16 sections de 10 m^2 ont été échantillonnées à chaque collecte. Sur les sites avec et sans tamias, les collectes de nymphes à

l'affût ont été réalisées mensuellement de mars à mai en 2008 et d'avril à juin en 2009, avec la même méthodologie : 16 sections de 10 m² par site (CNR 2009).

5.1.2. Analyse des nymphes pour B. burgdorferi *sl*

Les nymphes collectées ont été transportées vivantes au laboratoire. Un total de 30 nymphes par mois pour chaque site d'étude a été analysé pour détecter la présence de *B. burgdorferi* sl par le Centre National de Référence (CNR) des *Borrelia* (Institut Pasteur). Après extraction de l'ADN des tiques, les *B. burgdorferi* sl ont été amplifiées et identifiées au niveau spécifique par PCR-RFLP, en utilisant l'espace intergénique *rrf-rrl*, méthode décrite dans Postic et collaborateurs (1994).

5.1.3. Analyse des restes de repas sanguins des nymphes

Les larves d'*I. ricinus* font un seul repas sur un hôte avant de se transformer en nymphe (Pérez-Eid 2007). A partir des nymphes à l'affut, il est possible d'identifier l'ADN de l'hôte sur lesquelles les larves se sont gorgées, ceci parfois plusieurs mois auparavant (Figure 16). A partir des nymphes analysées pour *B. burgdorferi* sl, les restes de repas sanguins ont été détectés par PCR-RLBH (Humair et al. 2007, Moran-Cadenas et al. 2007a), qui cible l'espace intergénique entre l'ARN ribosomique 23S et l'ARN ribosomique 5S. Les produits PCR sont ensuite déposés sur une membrane, au préalable "tapissée" par des sondes, chacune représentant une espèce ou un groupe d'espèces. Les 52 sondes caractérisant les espèces de mammifères, d'oiseaux et de reptiles présents en Forêt de Sénart sont présentées en Annexe 4. Par rapport à la méthodologie existante de PCR-RLBH (Humair et al. 2007, Moran-Cadenas et al. 2007a), 12 sondes d'espèces ou de genres supplémentaires aux sondes publiées ont été créées (*Tamias sibiricus*, *Oryctolagus cuniculus*, *Crocidura* sp. et 9 sondes d'oiseaux *Phasianus colchicus*, *Phylloscopus*, *Phylloscopus*/*Sylvia*, *Picus viridis*, *Columba palumbus*, *Certhia brachydactyla*, *Sturnus vulgaris*, *Pica pica* et *Corvus corone*), afin que soit inclus le maximum possible d'hôtes potentiels des tiques présents en Forêt de Sénart. Nous avons considéré les multiples repas (nymphes pour lesquelles plusieurs hôtes ont été identifiés) et les contaminations (nymphes pour lesquelles une contamination ne permet pas l'identification de l'hôte) comme des repas non-identifiés.

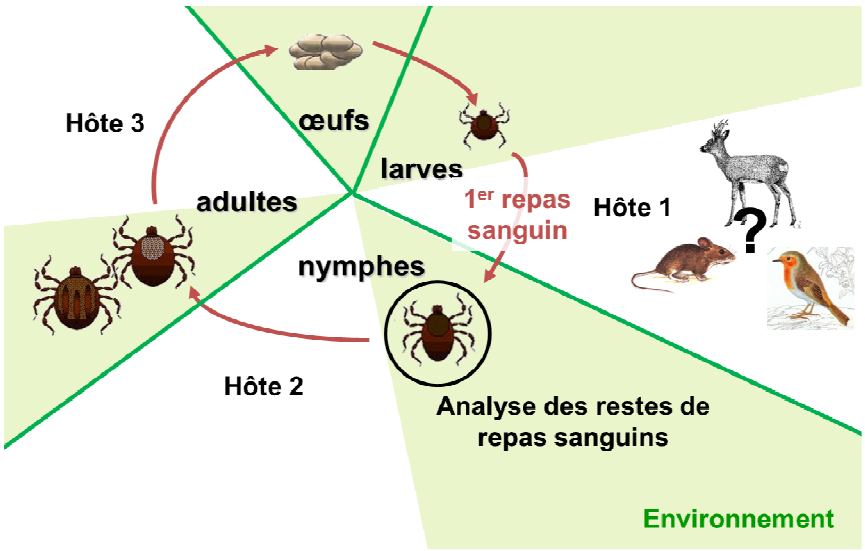


Figure 16 : Principe de l'analyse de repas sanguins chez les nymphes en quête d'hôtes.

5.2. Rongeurs et oiseaux

5.2.1. Captures et récolte d'échantillons

Piégeage des rongeurs

Sur le Parc de la Faisanderie, de 2006 à 2010, 104 pièges Sherman ont été répartis sur l'ensemble du Parc, aux intersections d'un maillage de 50 x 50 m avec un piège au centre de chacune de ces unités de surface (Figure 17). Les pièges, distants d'une trentaine de mètres, ont été ouverts huit jours par mois en 2006 et 2007, trois jours consécutivement durant la première quinzaine, puis cinq jours au cours de la seconde. A partir de 2008, ce dispositif de piégeage a été appliqué uniquement cinq jours par mois. Les pièges, appâtés avec du beurre d'arachide, ont été ouverts à l'aube, avant l'entrée en activité des tamias, et fermés le soir. Ils ont été relevés 4 à 5 fois par jour.

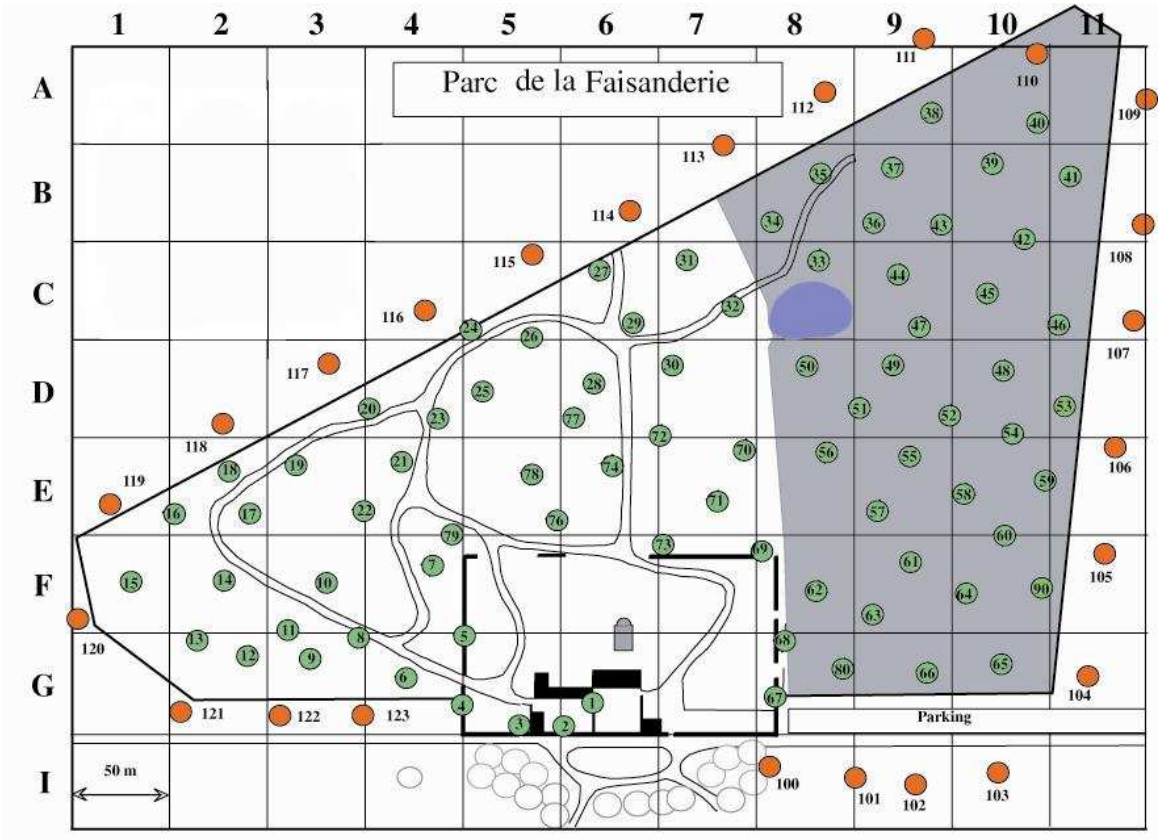


Figure 17*:* Plan de répartition des 104 pièges Sherman dans le Parc de la Faisanderie.
La zone grisée correspond à la zone de « chênaie fermée » et la zone blanche à la zone «chênaie ouverte ». Les pièges représentés en vert sont situés à l'intérieur du parc et ceux en rouge à l'extérieur.

En 2007, un autre dispositif a été ajouté afin de mettre en évidence la dispersion des jeunes tamias à l'extérieur du Parc. Des pièges ont été installés à 250, 500 et 1 000 m à l'est du Parc, et à 500, 750 et 1 000 m à l'ouest. A chacune de ces distances, 80 pièges (40 à l'est et 40 à l'ouest), ont été installés deux jours consécutivement, en avril et juillet (250 m à l'est et 500 m à l'ouest), en mai et août (500 m à l'est et 750 m à l'ouest), et en juin et septembre (1 000 m à l'est et à l'ouest). Lors de leur première capture, les tamias ont été marqués avec une bague auriculaire et un transpondeur et sexés, pesés et examinés. Sur chaque individu, une biopsie d'oreille a été prélevée lors de leur première capture de l'année. Si cette première capture avait lieu au printemps, une seconde était effectuée la même année en juin, voire en septembre-octobre. De plus, de nouvelles biopsies d'oreilles étaient prélevées, si les individus étaient recapturés les années suivantes, avec un maximum de cinq biopsies par animal. A chaque capture par session de piégeage, les tiques, présentes sur les tamias ont été dénombrées, par stade de développement, à l'aide de lunettes grossissantes (x 2,5). Seules les tiques localisées sur la tête (cou, crâne, périphérie des yeux, oreilles), principale partie du corps où elles sont implantées, ont été prises en compte. En 2007 et 2008, un maximum de 30 individus de campagnols roussâtres et de 30 individus de mulots sylvestres, capturés dans les pièges prévus pour les tamias, ont été collectés mensuellement. Ces

individus ont été sacrifiés par dislocation des vertèbres cervicales, puis une biopsie d'oreille a été prélevée et placée dans l'éthanol à 90°. Les individus ont ensuite été placés dans un sac plastique puis congelés. Au laboratoire, après décongélation, ils ont été examinés afin de déterminer leur sexe, leur poids et leur charge en tiques. Celles-ci ont été dénombrées et prélevées sous loupe binoculaire. L'âge des rongeurs a été estimé d'après leur masse corporelle. Les individus pesant moins de 18 g ont été considérés comme juvéniles pour les deux espèces (18 g étant le plus petit poids observé pour une femelle en début de gestation, J.-L. Chapuis, com. pers.). Les tiques, conservées dans de l'éthanol à 70 %, ont été identifiées au microscope optique d'après les clés morphologiques de Pérez-Eid (2007). Des piégeages spécifiques pour le campagnol roussâtre et le mulot sylvestre ont été effectués en mars, juin et septembre entre 2007 et 2010. Le dispositif était constitué de 200 pièges de type INRA, appâtés avec du beurre d'arachide, posés trois jours consécutivement, ouverts de nuit et de jour. Cent pièges, distants de 3 m, ont été installés en milieu ouvert et cent en milieu fermé. Les pièges ont été relevés deux fois par jour, en fin d'après-midi et à l'aube. Les rongeurs ont été marqués et relâchés sur leur lieu de capture. Sur les autres sites d'étude de la Forêt de Sénart (site avec et sans tamias), des piégeages ont été effectués en avril 2008 et en mai 2009 avec 60 pièges Sherman, ouverts jour et nuit. En 2009, aucun campagnol roussâtre ni mulot sylvestre n'a été capturé sur ces sites.

Capture des oiseaux

En juin-juillet 2008 et en mai-juin 2009, des oiseaux ont été capturés sur les sites avec et sans tamias. En 2009, un site supplémentaire a été étudié, le Parc de la Faisanderie. Un dispositif standard de captures a été mis en place avec des carrés de 16 filets (chacun mesurant 12 m de long et 2,5 m de haut) équidistants de 50 m l'un de l'autre. Les filets interceptaient les oiseaux entre 0,4 et 2,9 m du sol. L'échantillonnage d'oiseau a été réalisé au cours d'une session de capture par semaine et par site (le matin) pendant 4 semaines. Pour chaque oiseau capturé, l'espèce, le poids, le sexe (mâle, femelle ou inconnu) et l'âge (jeunes ou adultes, Svensson 1992) ont été déterminés. Les tiques des oiseaux ont été comptées, collectées et identifiées.

5.2.2. Analyse des échantillons prélevés sur les rongeurs et les oiseaux

Dénombrement des tiques

Pour les petits rongeurs, les tiques ont été comptées sur l'ensemble du corps, contrairement au tamia où seules celles présentes sur la tête ont été dénombrées. Afin d'homogénéiser nos données, nous avons développé un modèle pour le tamia permettant d'estimer le nombre total de

tiques présentes sur l'ensemble du corps, à partir de données collectées à la fois sur le terrain (dénombrement sur la tête) et au laboratoire (dénombrement sur l'ensemble du corps). Ceci a été réalisé sur 19 tamias sacrifiés, issus d'une étude réalisée en 2007 à Verneuil-sur-Seine dans les Yvelines. Une régression sur le nombre de tiques comptées sur le terrain par rapport au nombre de tiques comptées au laboratoire pour le tamia a été effectuée (Marsot 2008). A partir de l'hypothèse qu'il y a une relation linéaire entre les comptages de tiques effectués sur le terrain et au laboratoire, les variables de comptages initiaux de terrain et de laboratoire (respectivement Y_T et Y_L, qui suivent une loi de Poisson), sont représentées par la racine carrée de ces comptages (respectivement Z_T et Z_L), qui suivent des lois gaussiennes (Johnson et al. 1992), avec la relation de régression suivante qui les lie : $Z_T^i = \sqrt{\alpha} . Z_L^i + e^i$, avec α le coefficient de correction des comptages de terrain, égal à 0,7.

Prévalence d'infection et identification des espèces de *B. burgdorferi* sl

Les biopsies d'oreilles prélevées sur les tamias, les campagnols roussâtres et les mulots sylvestres ont été analysées pour détecter la présence de *B. burgdorferi* sl et identifier les espèces correspondantes. L'ADN de ces biopsies a été extrait à l'aide du kit Macherey-Nagel (Düren, Allemagne). Une PCR ciblant le gène codant pour l'ARN_r 16S, utilisant l'amorce forward [5'-ATGCACACTTGGTGTTAACTA-3' (819-842] et l'amorce reverse [3'-GACTTATCACCGGCAGTCTTA-5' (1153-1173)], a été réalisée sur chaque échantillon afin de détecter la présence d'ADN de *B. burgdorferi* sl (Marconi and Garon 1992). Les espèces de *B. burgdorferi* sl ont été identifiées par le CNR *Borrelia* de l'Institut Pasteur par PCR-RFLP (Postic et al. 1994).

Larves gorgées

Des larves gorgées ont été prélevées sur les tamias entre 2005 et 2009 sur le Parc de la Faisanderie. Ces échantillons ont été extraits par la méthode décrite par Moran-Cadenas et collaborateurs (2007b) utilisant de l'hydroxyde d'ammonium, puis analysés pour détecter la présence de *B. burgdorferi* sl et identifier les espèces correspondantes par PCR-RLBH (Moran-Cadenas et al. 2007a).

5.2.3. Estimation des densités d'hôtes

Pour le tamia, les densités sur les sites d'étude ont été calculées à partir du logiciel DENSITY 4.4 (Efford 2004, Efford et al. 2005), utilisant la méthode de simulation et prédiction inverse adaptée pour une grille de piège à capture unique (Efford et al. 2009). L'abondance de la

population a été calculée grâce au logiciel CAPTURE implémenté dans le logiciel DENSITY. Lorsque le nombre de recaptures était trop faible (en général <5), DENSITY ne pouvant pas fournir de résultat, l'abondance de la population est divisée par la surface de la grille de piégeage à laquelle est ajoutée une bande d'une largeur équivalente à la RPSV - "root pooled spatial variance" - lorsqu'elle est calculable (> 1 recapture). La RPSV est la distance moyenne entre le barycentre et les coordonnées des pièges, qui forment le polygone ayant capturé les tamias, regroupées sur l'ensemble de la session.

Pour les campagnols roussâtres et mulots sylvestres, les abondances ont été estimées en mars, juin et septembre de chaque année. L'abondance était estimée à partir du logiciel Capture (Otis et al. 1978). Les abondances ainsi obtenues ont été divisées par l'aire de piégeage effective (Parmenter et al. 2003) pour obtenir les densités.

Un récapitulatif des données collectées en milieu naturel sur l'ensemble des sites entre 2007 et 2010 pour le tamia de Sibérie, le campagnol roussâtre, le mulot sylvestre et les oiseaux, est présenté dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Récapitulatif des données disponibles par site d'étude et par année pour le tamia de Sibérie, le campagnol roussâtre, le mulot sylvestre et les oiseaux.
FA = Parc de la Faisanderie, tique = comptage de tiques, biopsie = prélèvement biopsies d'oreille, larve = prélèvement de larves gorgées, drapeau = collecte de nymphes à l'affût

Année	2005	2006	2007	2008			2009			2010
Sites	FA	FA	FA	FA	Sites avec tamias	Sites sans tamia	FA	Sites avec tamias	Sites sans tamia	FA
Tamia de Sibérie	larve	larve	tique larve biopsie	tique larve biopsie	tique biopsie	tique biopsie	tique larve biopsie	-	-	tique biopsie
Campagnol roussâtre	-	-	tique biopsie	-	tique biopsie	tique biopsie	-	-	-	-
Mulot sylvestre	-	-	tique biopsie	-	tique biopsie	tique biopsie	-	-	-	-
Oiseaux	-	-	-	-	tique	tique	tique	tique	tique	-
Nymphes à l'affût	-	-	drapeau	drapeau	drapeau	drapeau	drapeau	drapeau	drapeau	drapeau

PARTIE III : EVALUATION DE LA COMPETENCE DE RESERVOIR DU TAMIA DE SIBERIE POUR *B. BURGDORFERI* SL PAR DES DONNEES COLLECTEES EN MILIEU NATUREL

1. CARACTERISTIQUES A EVALUER POUR ETUDIER LA COMPETENCE DE RESERVOIR DU TAMIA EN MILIEU NATUREL

Vourc'h et collaborateurs (2007) ont montré, à partir d'un faible échantillon (n = 33), que le tamia peut être infecté par *B. burgdorferi* sl, et qu'il héberge des tiques *I. ricinus*. De plus, une espèce proche, le tamia strié, est connue pour être un réservoir compétent pour *B. burgdorferi* ss (McLean et al. 1993). Nous avons donc de fortes présomptions que le tamia de Sibérie est un réservoir compétent de *B. burgdorferi* sl, mais pas de certitude. Pour le vérifier, la pratique reconnue est de réaliser une xénodiagnose (Gern et al. 1998). Il s'agit de placer des larves non-infectées sur des individus, de l'espèce étudiée, infectés par *B. burgdorferi* sl, afin qu'elles se nourrissent, de récupérer les larves gorgées et les laisser muer en nymphes pour ensuite analyser la prévalence en *B. burgdorferi* sl chez ces nymphes. La xénodiagnose permet d'étudier la susceptibilité de l'espèce à l'infection, la durée d'infection au sein de l'espèce et de quantifier l'infectivité, c'est-à-dire la capacité de l'espèce à transmettre l'infection (rapport du nombre de nymphes infectées issues de larves naïves gorgées sur un animal infecté sur le nombre de larves initiales déposées sur l'animal).

Les expériences en milieu contrôlé donnent l'avantage de pouvoir étudier les caractéristiques entrant dans la notion de compétence de façon claire. Cependant, les résultats obtenus dans ces conditions ne reflètent pas toujours les processus en jeu dans les conditions de vie de l'espèce, du fait des contraintes environnementales imposées par le milieu naturel. Nous avons donc étudié, en milieu naturel, plusieurs caractéristiques de la compétence, et organisé en parallèle des infections expérimentales permettant de réaliser des xénodiagnoses. Le temps de mise en place de ces expériences s'étant avéré plus long qu'escompté, les expériences ne vont débuter qu'à la fin de ma thèse. Les caractéristiques étudiées du tamia pour évaluer la compétence en milieu naturel (Forêt de Sénart) sont les suivantes (Figure 18) : 1) infestation par les tiques, 2) prévalence d'infection, 3) maintien de l'infection, 4) transmission de l'infection aux larves.

L'infestation par les tiques et la prévalence d'infection du tamia ont été comparées à celles du campagnol roussâtre sur des populations sympatriques. Nous avons de plus testé si l'exposition et la résistance du tamia aux tiques et à *B. burgdorferi* sl étaient supérieures ou non à celles du campagnol. La résistance agit en diminuant le succès d'infection ou en augmentant la capacité d'élimination des parasites (Raberg et al. 2009). Grâce à l'étude d'un nombre important de tamias (n > 335), nous pourrons ainsi confirmer que le tamia est bien susceptible d'héberger des tiques et d'être infecté par les différentes espèces de *B. burgdorferi* sl. La comparaison avec le réservoir natif

est motivée par l'hypothèse que si le tamia de Sibérie est bien plus infesté et plus infecté que le réservoir natif avéré (le campagnol roussâtre), le tamia devrait lui aussi être compétent.

Le maintien de l'infection chez les tamias a été étudié autour de deux périodes : la période d'hibernation des tamias et la période d'activité durant laquelle les tamias sont exposés aux tiques. La période d'hibernation est une période critique car le tamia n'est *a priori* pas exposé aux tiques et sa température baisse jusqu'à 3°C (Anufriev et al. 2005). Cette information est capitale pour identifier si le tamia peut être une nouvelle source d'infection à la sortie de l'hiver, s'ajoutant à celles déjà connues : les tiques, qui ont passé l'hiver en diapause, les campagnols roussâtres et les mulots sylvestres (Tälleklint and Jaenson 1995). Enfin, nous avons caractérisé la transmission de l'infection du tamia aux larves pour avoir une estimation partielle de l'infectivité. Nous n'avons pas pu estimer l'infectivité totale, c'est-à-dire la transmission de l'infection du tamia aux larves puis la transformation des larves en nymphes à l'affût, en raison de contraintes de terrain.

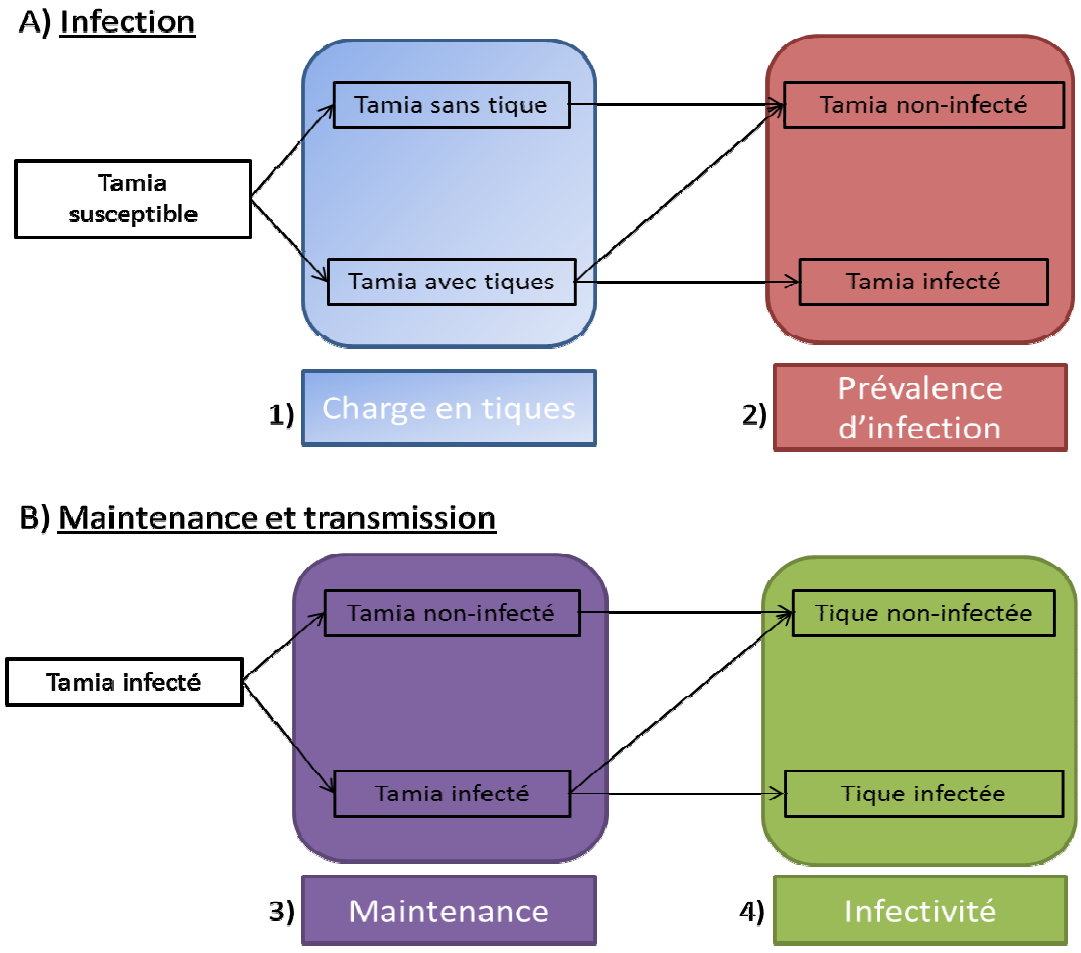


Figure 18 : Caractéristiques de la compétence du tamia de Sibérie pour *B. burgdorferi* sl évaluées en milieu naturel.
1) la charge en larves et en nymphes des tamias, 2) la prévalence d'infection dans les populations de tamias, 3) la maintenance de l'infection chez les individus et dans les populations et 4) la transmission de l'infection des tamias aux larves.

2. INFESTATION DU TAMIA PAR LES TIQUES *I. RICINUS* (ANNEXE 1)

2.1. Objectifs

Les charges d'infestation des hôtes vertébrés par les tiques dépend de facteurs liés à la disponibilité des tiques (Randolph et al. 2002, Hubalek et al. 2003) et à des caractéristiques de l'hôte (comportement, immunogénétique, sexe, âge) (Pisanu et al. 2010). L'objectif de ce travail est d'étudier la variation de charge en tiques des tamias. Pour cela, nous avons analysé comment ces charges variaient en fonction de la disponibilité en tiques (selon le temps – années, mois - et l'habitat) et des caractéristiques de l'hôte (l'âge, le sexe et la part de variation individuelle). Nous avons, ensuite, comparé les charges en tiques des tamias à celles des campagnols roussâtres, afin de tester si le tamia avait des charges supérieures. Enfin, nous avons voulu identifier les sources de variation possibles des charges en tiques entre le tamia et le campagnol, en partant du postulat que la charge en tiques dépendait de l'exposition aux tiques et de la résistance face aux tiques des animaux, résistance incluant à la fois l'action directe sur les parasites (comme le toilettage) et la réaction immunitaire.

2.2. Matériel et méthodes

2.2.1. Captures de rongeurs et collecte de tiques

Les captures de tamias se sont déroulées mensuellement entre mars et octobre de 2005 à 2008 sur le Parc de la Faisanderie. Pendant chaque session de piégeage, les tamias ont été pesés, sexés, examinés pour les tiques et immédiatement relâchés. Nous avons compté le nombre de larves et de nymphes sur la tête (Craine et al. 1995, Schmidt et al. 1999) des tamias. Ils ont été classés en trois classes d'âges suivant leur poids et la date de capture : adultes (nés l'année précédente ou avant), jeunes de la première cohorte (sortis du terrier entre avril et juin) et jeunes de la seconde cohorte (sortis du terrier entre août et septembre). Au total, 687 tamias différents ont été capturés. Parallèlement, entre 2007 et 2008, 346 campagnols ont été capturés sur la grille de piégeage. Ils ont été euthanasiés, placés dans un sac plastique et congelés pour être examinés au laboratoire. Les tiques ont été comptées au laboratoire sur l'ensemble du corps des animaux et identifiées au microscope optique (Pérez-Eid 2007).

Les nymphes à l'affût ont été récoltées mensuellement par la méthode du drapeau sur les deux habitats du Parc de la Faisanderie, chênaie ouverte et chênaie fermée. La récolte a été effectuée sur 15 points de 10m² choisis au hasard en 2005 et 2006 et sur 16 points en 2007 et 2008.

2.2.2. Analyses statistiques des données de comptages

Pour analyser les charges en larves et en nymphes des tamias, nous avons utilisé des modèles mixtes (Pinheiro and Bates 2000) en considérant l'année, le mois, l'habitat, l'âge et le sexe comme effets fixes et l'individu comme effet aléatoire. Pour analyser les charges en larves et nymphes des campagnols adultes, nous avons testé les effets de l'habitat, de l'année, du mois et du sexe à l'aide de modèles linéaires généralisés (Venables and Ripley 1996). Pour chacun de ces modèles, la sélection de modèle a été réalisée par des tests de rapport de vraisemblance.

2.2.3. Comparaison de l'exposition et de la résistance aux tiques des tamias de Sibérie et des campagnols roussâtres

Pour tester si l'exposition et la résistance aux tiques du tamia et du campagnol sont différentes, nous avons considéré que la charge en tiques dépendait de l'exposition et de la résistance suivant la relation suivante : **charge en tiques = exposition / résistance**. En effet, plus l'exposition face aux tiques augmente, plus la charge en tiques augmente. Par contre, plus la résistance face aux tiques augmente, plus la charge en tiques diminue. Ainsi, nous avons tout d'abord caractérisé l'exposition aux tiques et ensuite la résistance face aux tiques du tamia et du campagnol.

Pour évaluer l'exposition aux tiques du tamia et du campagnol, nous avons considéré que l'exposition aux tiques dépendait de la densité de nymphes à l'affût (densité), de la surface parcourue par les individus et de la surface d'accroche disponible des tiques sur les hôtes. Ne disposant pas de ces deux derniers paramètres, nous avons considéré comme proxy de la surface parcourue, la taille du domaine vital (domaine) et comme proxy de la surface d'accroche, le poids de l'hôte (poids). Nous utilisons les valeurs moyennes de domaine vital du tamia de Sibérie et du campagnol roussâtre issues de la littérature (Chapuis 2008), ainsi que les poids moyens des populations de tamias et de campagnols calculés à partir des données collectées à la Faisanderie en 2007. Ainsi, pour le tamia (Ts) et pour le campagnol (Mg), nous obtenons :

$$exposition_{Ts} = densité.domaine_{Ts}.poids_{Ts}$$

$$exposition_{Mg} = densité.domaine_{Mg}.poids_{Mg}$$

En faisant le rapport des deux équations, nous avons un lien entre l'exposition aux tiques du tamia de Sibérie et celle du campagnol roussâtre, pour lequel le facteur densité s'élimine, d'où :

$$\frac{exposition_{Ts}}{exposition_{Mg}} = \frac{domaine_{Ts}.poids_{Ts}}{domaine_{Mg}.poids_{Mg}}$$

Pour comparer l'exposition du tamia et du campagnol, nous comparons ce rapport à 1. Ainsi, si :

- $exposition_{Ts} / exposition_{Mg} = 1$, le tamia et le campagnol ont la même exposition aux tiques ;
- $exposition_{Ts} / exposition_{Mg} > 1$, le tamia est plus exposé aux tiques que le campagnol ;
- $exposition_{Ts} / exposition_{Mg} < 1$, le tamia est moins exposé aux tiques que le campagnol.

L'intervalle de confiance associé à ce rapport d'exposition a été calculé par une procédure de bootstrap sur les échantillons d'individus permettant de caractériser le poids moyen de la population de tamias et de campagnols.

La résistance d'une espèce d'hôte aux tiques n'est pas directement mesurable avec des données de terrain. Pour comparer la résistance du tamia et du campagnol, nous avons utilisé le postulat de départ : charge en tiques = exposition / résistance ; et exprimé la résistance en fonction de la charge en tiques et de l'exposition : résistance = exposition / charge en tiques.

Pour évaluer l'exposition, nous avons utilisé la relation précédente (exposition = densité x domaine x poids) pour chacune des deux espèces d'hôtes.

Pour évaluer la charge en tiques, nous avons estimé la probabilité « de ne pas être infesté par les tiques », afin de travailler directement sur l'espérance de cette variable. Le nombre de tiques porté par les individus est généralement modélisé par une Binomiale Négative. Cependant, pour ce calcul, nous avons considéré que le nombre de tiques par individu suivait une loi de Poisson d'espérance λ. Nous avons utilisé une loi de Poisson plutôt qu'une Binomiale Négative, car la loi de Poisson est plus simple d'utilisation, et car nous sommes intéressés par le calcul de l'espérance, l'espérance de la loi de Poisson et de la Binomiale Négative étant les mêmes.

Pour un individu d'une population hôte A, la probabilité qu'il n'ait aucune tique est : $p(A=0) = \exp(-\lambda)$. Nous utilisons ensuite la transformation logarithme afin de travailler directement sur l'espérance λ, d'où $-\ln(p(A=0)) = \lambda$. En transférant ensuite la probabilité de ne pas être infesté en probabilité d'être infesté par la formule : $p(A=1) = 1 - p(A=0)$, nous pouvons exprimer la résistance en fonction de l'exposition et de la probabilité d'être infesté. Ainsi, pour le tamia (Ts) et pour le campagnol (Mg), nous obtenons :

$$resistance_{Ts} = \frac{densité.domaine_{Ts}.poids_{Ts}}{-ln(p(Ts=1))}$$

$$resistance_{Mg} = \frac{densité.domaine_{Mg}.poids_{Mg}}{-ln(p(Mg=1))}$$

En faisant le rapport des deux équations, nous avons un lien entre la résistance aux tiques du tamia de Sibérie et celle du campagnol roussâtre, pour lequel le facteur densité s'élimine, d'où :

$$\frac{resistance_{Ts}}{resistance_{Mg}} = \frac{domaine_{Ts}.poids_{Ts}.(-ln(p(Mg=1)))}{domaine_{Mg}.poids_{Mg}.(-ln(p(Ts=1)))}$$

Pour comparer l'exposition du tamia et du campagnol, nous comparons ce rapport à 1. Nous utilisons les valeurs moyennes de domaine vital du tamia de Sibérie et du campagnol roussâtre issues de la littérature (Chapuis 2008), ainsi que les poids moyens des populations de tamias et de campagnols et les probabilités de ne pas être infesté par les tiques des tamias et des campagnols, calculés à partir des données collectées à la Faisanderie en 2007. Ainsi, si :

- $resistance_{Ts} / resistance_{Mg} = 1$, le tamia et le campagnol sont aussi résistants aux tiques ;
- $resistance_{Ts} / resistance_{Mg} > 1$, le tamia est plus résistant aux tiques que le campagnol ;
- $resistance_{Ts} / resistance_{Mg} < 1$, le tamia est moins résistant aux tiques que le campagnol.

L'intervalle de confiance associé à ce rapport de résistance a été calculé via une procédure de bootstrap sur les échantillons d'individus permettant de caractériser le poids moyen et les probabilités de ne pas être infesté par les tiques de la population de tamias et de campagnols.

2.3. Résultats

Je ne présente ici que les résultats les plus importants. Les détails sont disponibles dans l'annexe 1. Un total de 1 082 nymphes à l'affût a été collecté entre 2006 et 2008. Les larves et les nymphes *I. ricinus* des campagnols représentaient 93,1 % des spécimens identifiés. Les densités de nymphes à l'affût sont maximales en mai - juin, avec une densité moyenne maximale atteinte en juin 2006. Un second pic de densité, de plus faible amplitude, est observé en septembre (Figure 19).

La modélisation des charges en tiques du tamia indique que les facteurs significatifs sont l'âge, le sexe, l'individu, et l'habitat. Celle du campagnol identifie l'année, le mois et le sexe comme facteur significatif. Les charges en tiques des tamias suivent le même patron de variation que celles des nymphes à l'affût, avec une infestation maximale en juin, notamment pour les adultes (Figure 19). Les niveaux d'infestation des tamias sont comparables entre années. Les tamias mâles adultes étaient significativement plus infestés par les larves et les nymphes que les femelles adultes et que les jeunes nés au printemps et en été (Figure 19). Pour les tamias adultes, l'effet individuel

explique significativement 31 % et 24 % de la variance totale des charges en larves et en nymphes respectivement. Nous avons aussi identifié que les variations saisonnières d'infestation en tiques des tamias dépendaient de la densité de nymphes à l'affût sur la végétation (Figure 19) et de l'habitat. Pour les campagnols, les mâles avaient des charges significativement plus élevées en larves et en nymphes que les femelles (Figure 20). Les campagnols sont plus fortement infestés en 2008 qu'en 2007, avec un maximum en juillet. Au pic d'activité des tiques *I. ricinus*, la charge moyenne des tamias adultes était de 27 à 69 fois plus élevée que celle des campagnols adultes (Figure 19 et Figure 20). De plus, les tamias hébergeaient en moyenne 6 à 12 fois plus de nymphes que les campagnols.

En ce qui concerne l'exposition du tamia et du campagnol, nous utilisons les valeurs suivantes :

- domaine vital du tamia de Sibérie : 1,3 ha (Marmet et al. 2009) ;
- domaine vital du campagnol roussâtre : 0,08 ha (Le Louarn and Quéré 2003) ;
- poids moyen des tamias : 88 g ;
- poids moyen des campagnols : 24 g.

Le rapport d'exposition est égal à 60, avec un intervalle de confiance à 95 % de [58 ; 61]. Comme ce rapport est significativement supérieur à 1, le tamia semble plus exposé aux tiques que le campagnol.

En ce qui concerne la résistance du tamia et du campagnol, nous utilisons les mêmes valeurs que précédemment pour évaluer l'exposition et les probabilités de ne pas être infesté par les tiques de 0,14 pour les tamias de Sibérie et de 0,45 pour les campagnols roussâtres. Le rapport des résistances est égal à 24, avec un intervalle de confiance à 95 % de [20 ; 28]. Comme ce rapport est significativement supérieur à 1, le tamia semble plus résistant aux tiques que le campagnol.

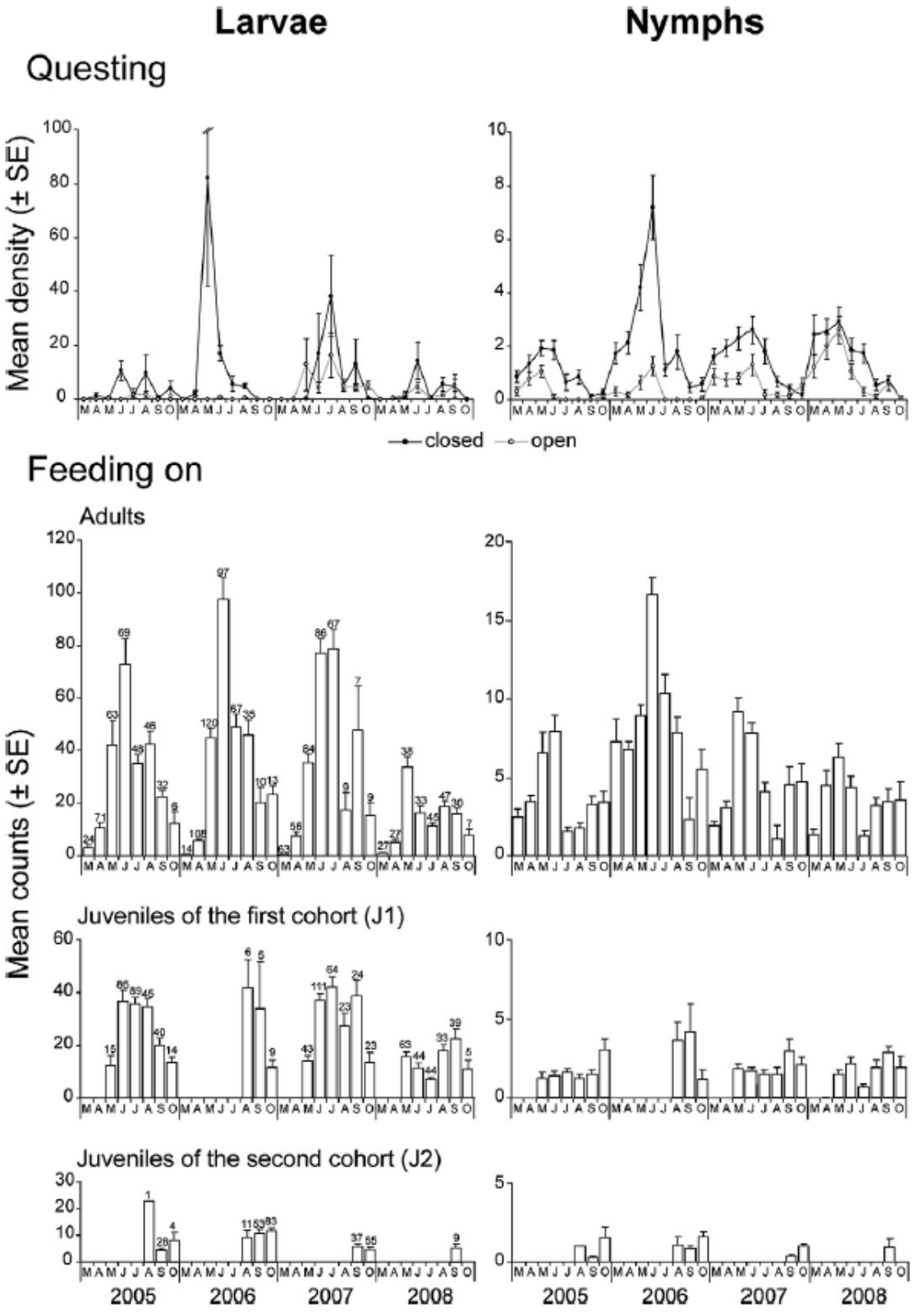


Figure 19 *:* Variations mensuelles des densités moyennes de tiques *I. ricinus* à l'affût et comptages moyens de tiques *I. ricinus* des tamias.

Les résultats sont présentés de 2005 à 2008 par stade de développement des tiques (larves et nymphes), suivant l'habitat pour les densités de tiques à l'affût et suivant l'âge pour les comptages des tamias. Le nombre d'individus examinés est indiqué au-dessus des barres d'erreurs pour les larves, le même effectif étant valable pour les nymphes. Une absence de taille d'échantillon signifie qu'aucun tamia n'a été capturé. SE, standard error (Pisanu et al. 2010).

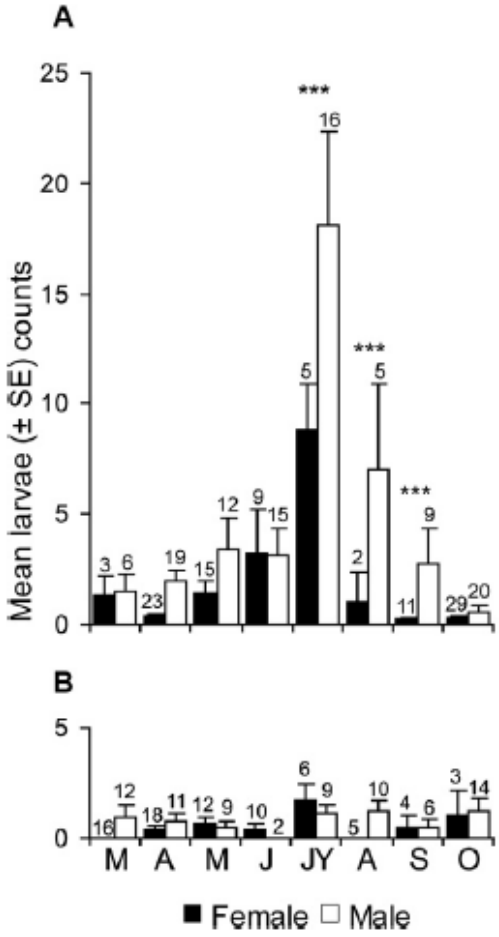


Figure 20*:* Variations mensuelles des comptages moyens de tiques pour les campagnols roussâtres.
Les comptages sont présentés suivant le sexe pour les campagnols adultes en 2007 (A) et 2008 (B) (Pisanu et al. 2010).

3. INFECTION DES TAMIAS PAR *B. BURGDORFERI* SL (ANNEXE 2)

3.1. Objectifs

Les petits rongeurs acquièrent l'infection en *B. burgdorferi* sl suite à une morsure de tique au stade de nymphe ou d'adulte femelle (cas rare) infectée. Les larves ne sont pas considérées comme infectantes, la transmission transovarienne (adulte femelle – œufs) étant rare (Bellet-Edimo et al. 2005). L'infection en *B. burgdorferi* sl de la sous-espèce *T. sibiricus barberi* n'a pas été étudiée sur son aire d'origine. Seules quelques études reportent des infections en Chine chez un très petit nombre d'individus de l'espèce *T. sibiricus* (1 sur 3 tamias analysés Chu et al. 2006). En France, Vourc'h et collaborateurs (2007) ont montré que le tamia hébergeait *B. afzelii* (9 sur 11 individus infectés) et *B. burgdorferi* ss (1 sur 11). Trois objectifs ont guidé ce travail. Tout d'abord, nous avons voulu savoir si le tamia était infecté par toutes les espèces de *B. burgdorferi* sl associées aux rongeurs et présentes dans les nymphes à l'affût, leur source d'infection. Pour répondre à cette question, nous avons testé si la prévalence d'infection et la diversité d'espèces en *B. burgdorferi* sl

des tamias reflétaient celles trouvées chez les nymphes à l'affût. Ensuite, nous avons comparé la prévalence et la diversité en *B. burgdorferi* sl du tamia avec celles du campagnol roussâtre, pour tester si le tamia héberge plus d'espèces de *B. burgdorferi* sl que le campagnol, et à un niveau d'infection supérieur. Enfin, comme pour l'infestation en tiques, nous avons voulu identifier les sources de variation possibles des prévalences d'infection en *B. burgdorferi* sl entre le tamia et le campagnol, en partant du postulat que la prévalence d'infection en *B. burgdorferi* sl dépendait de l'exposition à *B. burgdorferi* sl et de la résistance à l'infection des animaux.

3.2. Matériels et méthodes

3.2.1. Captures de rongeurs et collecte de tiques

Des tamias, des campagnols et des nymphes à l'affût ont été collectés mensuellement entre 2006 et 2008 sur le Parc de la Faisanderie par des piégeages pour les rongeurs et par la méthode du drapeau pour les nymphes à l'affût. Nous avons recherché la présence de *B. burgdorferi* sl à partir de biopsies d'oreilles de chaque rongeur capturé et des nymphes vivantes collectées à l'affût en utilisant la méthode de PCR-RFLP (Postic et al. 1994).

3.2.2. Analyse statistique

Nous avons tout d'abord testé si les co-infections potentiellement observées chez le tamia étaient indépendantes entre espèces de *B. burgdorferi* sl en comparant les proportions attendues des co-infections à celles observées par un test du Chi^2.

Nous avons ensuite réalisé un modèle statistique par population étudiée (tamia, campagnol et nymphes à l'affût), car chaque population n'héberge pas les mêmes espèces de *B. burgdorferi* sl. Pour chacune de ces populations, nous avons utilisé un modèle multinomial avec comme variable explicative la probabilité d'être infecté par une espèce de *B. burgdorferi* sl. Pour comparer la prévalence et la diversité des espèces de *B. burgdorferi* sl entre les nymphes à l'affût et les rongeurs, nous avons travaillé sur les jeunes rongeurs. En effet, les adultes peuvent avoir été infectés au cours des années précédentes, aussi la prévalence d'infection chez les adultes n'est pas le reflet de l'infection de l'année étudiée. Nous estimons la probabilité qu'une nymphe et qu'un jeune rongeur soit infecté par *B. burgdorferi* sl et par une espèce donnée de *B. burgdorferi* sl par un GLM (McCullagh and Nelder 1989), avec une distribution multinomiale et un lien logit. Nous avons testé, pour les jeunes rongeurs, les variables explicatives année et sexe, par une sélection descendante de modèle. Les différences de probabilités estimées entre les nymphes et les rongeurs ont été comparées par des tests du Chi^2. Pour comparer la prévalence et la diversité en *B.*

burgdorferi sl entre les tamias et les campagnols (adultes et jeunes), nous avons ensuite utilisé le même type de GLM que décrit ci-dessus. Nous avons testé l'effet de l'année, de l'âge, du sexe ainsi que l'interaction entre sexe et âge.

3.2.3. Comparaison de l'exposition et de la résistance à B. burgdorferi *sl des tamias de Sibérie et des campagnols roussâtres*

Pour tester si l'exposition et la résistance aux tiques du tamia et du campagnol sont différentes, nous avons considéré que la prévalence d'infection dépendait de l'exposition et de la résistance suivant la relation suivante : **prévalence d'infection = exposition / résistance**. En effet, plus l'exposition à *B. burgdorferi* sl augmente, plus la prévalence d'infection augmente. Par contre, plus la résistance à l'infection augmente, plus la prévalence d'infection diminue. Ainsi, nous avons tout d'abord caractérisé l'exposition à *B. burgdorferi* sl et ensuite la résistance à l'infection du tamia et du campagnol.

Pour évaluer l'exposition à *B. burgdorferi* sl du tamia et du campagnol, nous avons considéré que l'exposition à *B. burgdorferi* sl dépendait de N le nombre moyen de nymphes infestant un individu de la population d'hôte et de p la probabilité qu'une nymphe soit infectée. Pour cela, nous avons d'abord travaillé sur la probabilité d'une population hôte A de ne pas être exposée à *B. burgdorferi* sl. Ceci est la probabilité qu'elle n'ait aucune nymphe infectée, soit : $p(A=0) = (1-p)^N$. Ainsi, pour le tamia (Ts) et le campagnol (Mg), nous obtenons :

$$p(Ts = 0) = (1 - p)^{N_{Ts}}$$
$$p(Mg = 0) = (1 - p)^{N_{Mg}}$$

Nous en déduisons l'exposition à *B. burgdorferi* sl pour chaque espèce hôte comme étant l'inverse de la probabilité de ne pas avoir de nymphe infectée :

$$exposition_{Ts} = 1 - (1 - p)^{N_{Ts}}$$
$$exposition_{Mg} = 1 - (1 - p)^{N_{Mg}}$$

En faisant le rapport des deux équations, nous avons un lien entre l'exposition aux tiques du tamia de Sibérie et celle du campagnol roussâtre, d'où :

$$\frac{exposition_{Ts}}{exposition_{Mg}} = \frac{1 - (1 - p)^{N_{Ts}}}{1 - (1 - p)^{N_{Mg}}}$$

Pour comparer l'exposition du tamia et du campagnol, nous comparons ce rapport à 1. Pour p, nous utilisons une valeur moyenne de la prévalence d'infection des nymphes à l'affût en Forêt de Sénart

(CNR 2009). Pour N, nous utilisons des valeurs moyennes de charge en nymphes à partir des données collectées à la Faisanderie en 2007 chez chacune des deux populations. Ainsi, si :

- $\text{exposition}_{Ts} / \text{exposition}_{Mg} = 1$, le tamia et le campagnol sont autant exposés à *B. burgdorferi* sl;
- $\text{exposition}_{Ts} / \text{exposition}_{Mg} > 1$, le tamia est plus exposé *B. burgdorferi* sl que le campagnol ;
- $\text{exposition}_{Ts} / \text{exposition}_{Mg} < 1$, le tamia est moins exposé *B. burgdorferi* sl que le campagnol.

L'intervalle de confiance associé à ce rapport d'exposition a été calculé via une procédure de bootstrap sur les échantillons d'individus permettant de caractériser le nombre moyen de nymphes infestant un individu des populations de tamias et de campagnols.

Comme pour la charge en tiques, pour comparer la résistance à l'infection du tamia et du campagnol, nous avons utilisé le postulat de départ : prévalence d'infection = exposition / résistance ; et exprimé la résistance en fonction de la prévalence d'infection et de l'exposition : résistance = exposition / prévalence d'infection.

Pour évaluer l'exposition, nous avons utilisé la relation précédente (exposition = $1 - (1-p)^N$) pour chacune des deux espèces d'hôtes.

Pour évaluer la prévalence d'infection, nous avons estimé la probabilité « de ne pas être infecté par *B. burgdorferi* sl» pour une population A, p(A = 0). En transformant ensuite la probabilité de ne pas être infecté en probabilité d'être infecté par la formule : p(A=1) = 1 - p(A=0), nous pouvons exprimer la résistance en fonction de l'exposition et de la probabilité d'être infecté. Ainsi, pour le tamia (Ts) et pour le campagnol (Mg), nous obtenons :

$$resistance_{Ts} = \frac{1-(1-p)^{N_{Ts}}}{p(Ts=1)}$$

$$resistance_{Mg} = \frac{1-(1-p)^{N_{Mg}}}{p(Mg=1)}$$

En faisant le rapport des deux équations, nous avons un lien entre la résistance aux tiques du tamia de Sibérie et celle du campagnol roussâtre, d'où :

$$\frac{resistance_{Ts}}{resistance_{Mg}} = \frac{(1-(1-p)^{N_{Ts}}).p(Mg=1))}{(1-(1-p)^{N_{Mg}}).p(Ts=1))}$$

Pour comparer la résistance du tamia et du campagnol, nous comparons ce rapport à 1. Pour p, nous utilisons une valeur moyenne de la prévalence d'infection des nymphes à l'affût en Forêt de Sénart (CNR 2009). Pour N et p(A = 0), nous utilisons des valeurs moyennes de charge en nymphes et de probabilités de ne pas être infecté par *B. burgdorferi* sl des tamias et des campagnols, calculées à partir des données collectées à la Faisanderie en 2007. Ainsi, si :

- $resistance_{Ts}$ / $resistance_{Mg}$ = 1, le tamia et le campagnol sont aussi résistants à *B. burgdorferi* sl ;
- $resistance_{Ts}$ / $resistance_{Mg}$ > 1, le tamia est plus résistant à *B. burgdorferi* sl que le campagnol ;
- $resistance_{Ts}$ / $resistance_{Mg}$ < 1, le tamia est moins résistant à *B. burgdorferi* sl que le campagnol.

L'intervalle de confiance associé à ce rapport d'exposition a été calculé via une procédure de bootstrap sur les échantillons d'individus permettant de caractériser les valeurs moyennes de charge en nymphes et de probabilités de ne pas être infecté par *B. burgdorferi* sl des populations de tamias et de campagnols.

3.3. Résultats

Nous avons collecté 335 tamias (dont 147 jeunes) et 671 campagnols (dont 151 jeunes). Parmi ces tamias, 10 étaient co-infectés (9 par *B. afzelii* et *B. burgdorferi* ss et 1 par *B. afzelii* et *B. garinii*). Les proportions de co-infection attendue et observée ne sont pas différentes (ddl = 1, $Chi^2_{observé}$ = 1.6 < $Chi^2_{attendu}$ = 3.84). Pour la suite des analyses, nous avons exclus les tamias co-infectés.

Parmi les 745 nymphes à l'affût collectées et analysées pour détecter la présence de *B. burgdorferi* sl, 10,1 % de ces nymphes étaient positives (Tableau 2). Au total, 3,4 % des nymphes étaient infectés par *B. burgdorferi* ss, 2,8 % par *B. afzelii*, 1,3 % par *B. garinii*, 1,3 % par *B. spielmanii*, 0,5 % par *B. valaisiana*, 0,4 % par *B. lusitaniae* et 2 nymphes étaient co-infectées par *B. afzelii* et *B. burgdorferi* ss. Ces 2 nymphes ont été exclues de l'analyse statistique, qui a été réalisée sur 743 nymphes à l'affût. Les jeunes tamias (Tableau 2) hébergeaient 3 des 6 espèces de *B. burgdorferi* sl détectées chez les nymphes : *B. afzelii* (18 %), *B. burgdorferi* ss (9 %) et *B. garinii* (2 %). En comparaison, les jeunes campagnols étaient infectés uniquement par *B. afzelii* (4 %). Aucun facteur de variation de la prévalence d'infection des jeunes tamias n'a été identifié. Ces jeunes tamias étaient 2,9 fois plus infectés (29,3 %) que les nymphes à l'affût (9,8 %). En comparaison, les jeunes campagnols étaient 2,5 fois moins infectés (4 %) que les nymphes à l'affût (Tableau 2), toutes espèces de *B. burgdorferi* sl confondues, mais avaient une probabilité d'infection par *B. afzelii* équivalente.

Pour les rongeurs adultes et jeunes, la probabilité d'être infecté par *B. burgdorferi* sl varie significativement suivant l'année (P-value < 0,01) et l'âge (P-value = 0,01), aussi bien pour les tamias que pour les campagnols. Les tamias sont plus infectés en *B. burgdorferi* sl en 2007 qu'en 2006 et 2008, alors que les campagnols sont plus infectés en 2006 (Figure 21). De plus, les tamias étaient plus infectés par *B. afzelii* que les campagnols en 2007 et 2008 (mais pas en 2006). Pour les deux espèces d'hôtes, les adultes étaient toujours plus infectés que les jeunes, sauf pour les tamias

pour *B. afzelii* (Figure 22). Lorsque l'on compare les prévalences d'infection chez les deux espèces, on trouve que les tamias sont globalement 2 fois plus infectés (35,2 %) que les campagnols roussâtres (15,8 %). Plus précisément, cette prévalence supérieure est due à l'infection du tamia par *B. garinii* et *B. burgdorferi* ss, absentes chez le campagnol roussâtre, car la probabilité d'infection de *B. afzelii* est équivalente chez les deux espèces de rongeurs.

En ce qui concerne l'exposition du tamia et du campagnol, nous utilisons la valeur moyenne d'infection des nymphes à l'affût de 0,10 et les valeurs de charges moyennes en nymphes suivantes:

- pour le tamia, $N_{Ts} = 4,9$;
- pour le campagnol, $N_{Mg} = 0,1$.

Le rapport d'exposition est égal à 39, avec un intervalle de confiance à 95 % de [26 ; 60]. Comme ce rapport est significativement supérieur à 1, le tamia semble plus exposé à *B. burgdorferi* sl que le campagnol.

En ce qui concerne la résistance du tamia et du campagnol, nous avons estimé la résistance du tamia et du campagnol, uniquement pour *B. afzelii*, seule espèce hébergée à la fois par les tamias et les campagnols. Nous utilisons les mêmes valeurs que précédemment pour évaluer l'exposition et les probabilités de ne pas être infecté par *B. afzelii*, de 0,8 pour les tamias de Sibérie et de 0,8 pour les campagnols roussâtres. Le rapport des résistances est égal à 30, avec un intervalle de confiance à 95 % de [17 ; 53]. Comme ce rapport est significativement supérieur à 1, le tamia semble plus résistant à *B. afzelii* que le campagnol. Par contre, pour *B. burgdorferi* ss et *B. garinii*, le tamia semble moins résistant que le campagnol, étant donné que le campagnol n'héberge pas ces espèces.

Tableau 2 *:* Pourcentages estimés et intervalles de confiance des probabilités d'infection par *B. burgdorferi* sl pour les nymphes à l'affût, les campagnols et les tamias analysés entre 2006 et 2008.

** Autres : autres espèces de* B. burgdorferi *sl (*B. lusitaniae, B. valaisiana *et* B. spielmanii*). Dans chaque colonne et pour chaque question, les pourcentages d'infection statistiquement différents (P < 0.05, test du χ^2) sont représentés par une lettre différente. Issu de Marsot et collaborateurs (Marsot et al. 2011).*

Questions	Espèce		N total	Total *B. burgdorferi* sensu lato	*B. afzelii*	*B. burgdorferi* sensu stricto	*B. garinii*	Autres*
Source d'infection *vs* jeunes rongeurs	Nymphes à l'affût	N observé	743	73	21	25	10	17
		% et [IC]		**9.8**[a] [2.6 ; 16.5]	**2.8**[a] [1.8 ; 4.4]	**3.4**[a] [2.3 ; 5.0]	**1.3**[a] [0.7 ; 2.5]	**2.3** [1.4 ; 3.7]
	Tamias	N observé	147	43	27	13	3	-
		% et [IC]		**29.3**[b] [13.9 ; 41.9]	**18.4**[b] [12.5 ; 27.0]	**8.8**[b] [5.1 ; 15.4]	**2.0**[a] [0.6 ; 6.5]	
	Campagnols	N observé	151	6	6	-	-	-
		% et [IC]		**4.0**[a] [1.8 ; 9.0]	**4.0**[a] [1.8 ; 9.0]			
Introduit *vs* natif (données complètes)	Tamias	N observé	335	118	54	58	6	-
		% et [IC]		**35.2**[a] [25.8 ; 43.5]	**16.1**[a] [12.3 ; 21.2]	**17.3** [13.3 ; 22.5]	**1.8** [0.8 ; 4.1]	
	Campagnols	N observé	671	106	106	-	-	-
		% et [IC]		**15.8**[b] [13.0 ; 19.2]	**15.8**[b] [13.0 ; 19.2]			

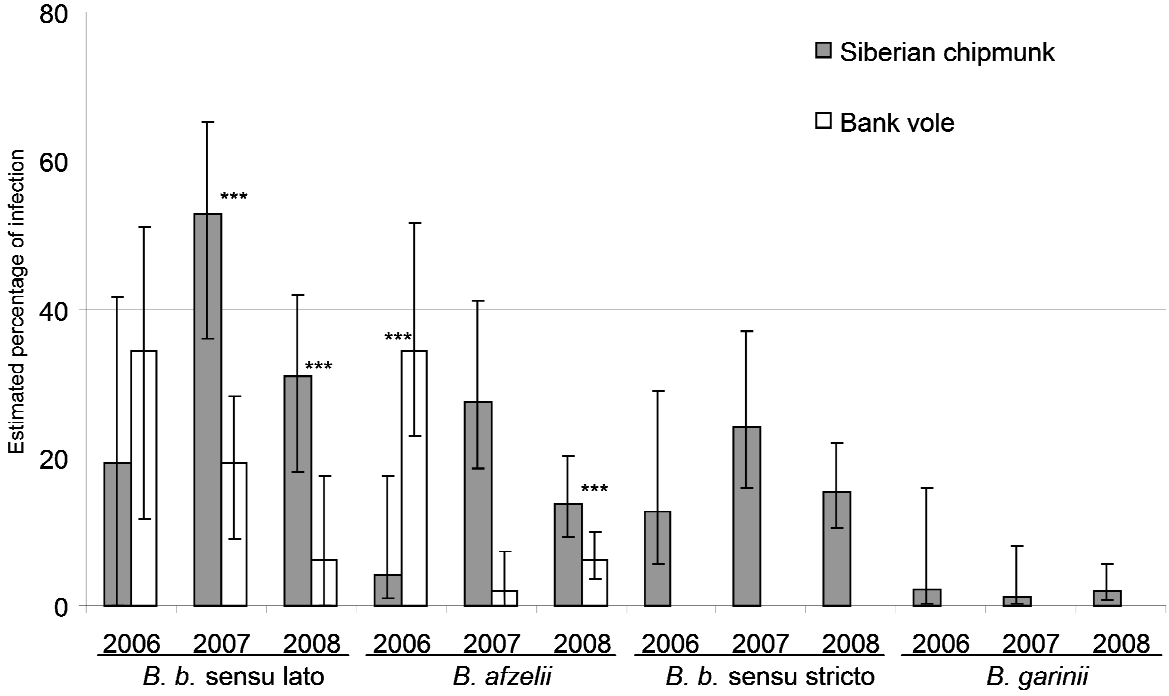


Figure 21 *:* Variation temporelle des pourcentages estimés d'infection par *B. burgdorferi* sl pour le tamia de Sibérie et le campagnol roussâtre.
*Les différences significatives entre tamia et campagnol sont indiquées par ***. Les barres d'erreurs représentent les intervalles de confiance à 95 %. Issue de Marsot et collaborateurs (2011).*

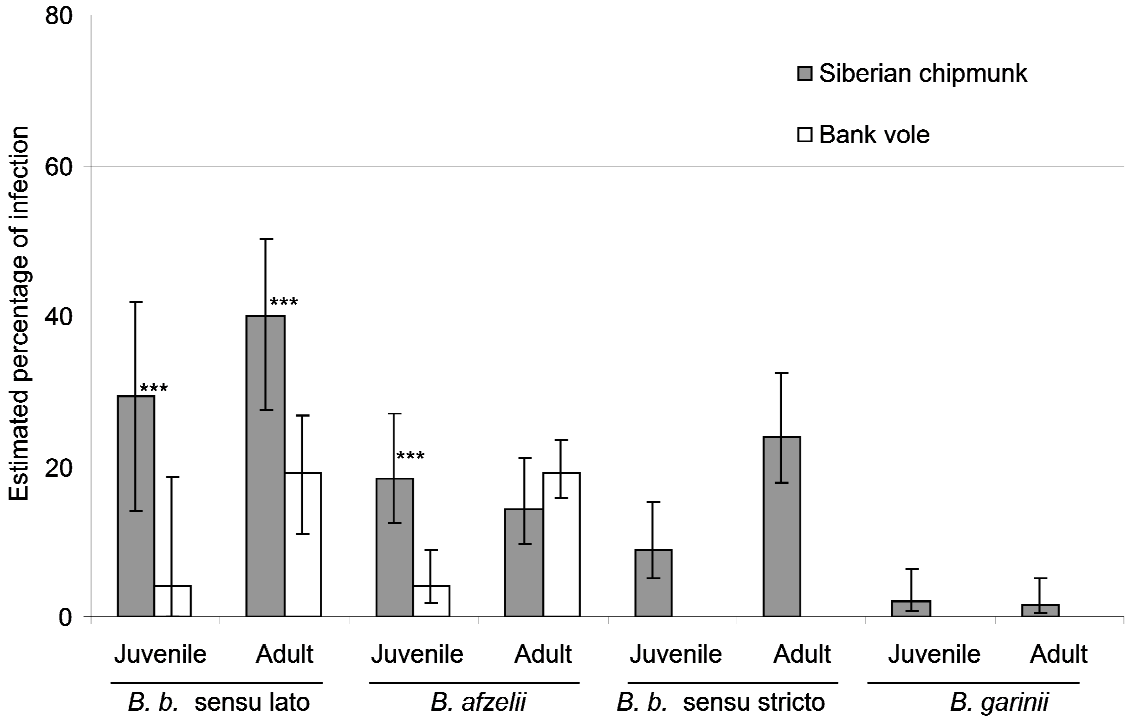


Figure 22 *:* Pourcentages estimés d'infection par *B. burgdorferi* sl pour les rongeurs jeunes et adultes.
*Les différences significatives entre tamia et campagnol sont indiquées par ***. Les barres d'erreurs représentent les intervalles de confiance à 95 %. Issue de Marsot et collaborateurs (2011).*

4. MAINTENANCE DE *B. BURGDORFERI* SL PAR LE TAMIA DE SIBERIE

4.1. Objectifs

Deux objectifs sous-tendent ce travail. Premièrement, nous voulons tester si les tamias infectés avant l'hibernation, le sont toujours à la sortie, bien qu'ils n'aient pas été exposés aux tiques *a priori*. Pour cela, nous avons étudié l'infection du tamia avant et après hibernation au niveau individuel et au niveau de la population. Afin de vérifier que les tamias n'étaient pas exposés à *B. burgdorferi* sl dans leur terrier, nous avons étudié la prévalence d'infection des jeunes (première ou deuxième cohorte) directement après leur sortie du terrier. L'hypothèse est que, la tique *I. ricinus*, n'étant pas une tique nidicole, les jeunes ne devraient pas être infectés à leur sortie du terrier. Si les jeunes tamias sont infectés, cela pourrait venir du fait, soit qu'ils ont déjà été exposés aux tiques en dehors de leur terrier, soit qu'il y a un cycle de *B. burgdorferi* sl à l'intérieur du terrier avec d'autres espèces d'*Ixodes* nidicoles. Deuxièmement, nous avons étudié si les tamias conservaient l'infection en *B. burgdorferi* sl pendant la période d'activité des tiques et des tamias (entre mars et octobre). Pour cela, nous avons suivi "l'histoire" d'infection d'individus capturés à plusieurs reprises.

4.2. Matériel et méthodes

4.2.1. Infection des jeunes tamias à la sortie du terrier

Des jeunes ont été capturés à leur sortie de terrier entre 2007 et 2010. Afin de capturer les individus le plus tôt possible après leur émergence du terrier (et n'ayant pas été en contact avec des tiques à l'affût), nous avons sélectionné ceux avec un poids inférieur à 55 g. Nous avons pratiqué une biopsie d'oreille sur ces individus et testé leur statut d'infection pour *B. burgdorferi* sl par PCR-RFLP (Postic et al. 1994). Nous avons, de plus, compté la charge en tiques de ces individus, afin de vérifier s'ils avaient déjà été exposés à des tiques à l'affût.

4.2.2. Maintien de l'infection des tamias avant et après l'hibernation

Pour suivre l'infection des tamias au niveau individuel avant et après l'hibernation, nous avons utilisé les données d'infection à partir de biopsies d'oreilles concernant des tamias capturés avant l'hibernation (septembre-octobre) et recapturés le plus tôt possible à leur sortie d'hibernation, c'est-à-dire avant le 15 avril de chaque année, entre 2007 et 2010 à la Faisanderie. Après cette date, la probabilité que les tamias aient été infectés par des tiques à l'affût est très élevée. Au niveau

population, à la Faisanderie, entre 2007 et 2010, nous avons comparé les prévalences d'infection des tamias avant (en octobre) et après hibernation (en mars) par un test du Chi².

4.2.3. Maintien de l'infection des tamias pendant la période d'activité des tiques

Pour suivre l'infection des tamias au niveau individuel pendant leur période d'activité, nous avons utilisé les données d'infection à partir de biopsies d'oreilles de tamias capturés en début d'année (à la première capture de l'individu pour les adultes et à leur sortie de terrier pour les jeunes de première cohorte), et en fin d'année (à partir de septembre) au sein d'une même année à la Faisanderie (de 2007 à 2010). Certains individus ont été recapturés les années suivantes, ce qui permet d'avoir une " histoire" d'infection avec un nombre de captures supérieur à deux. Nous présenterons quelques exemples d'histoire d'infection de ces individus.

4.3. Résultats

4.3.1. Infection des jeunes à la sortie du terrier

Entre 2007 et 2010, nous avons capturé 16 jeunes tamias, d'un poids inférieur à 55 g, dont 2 (12,5 %) étaient infectés en *B. burgdorferi* sl. Parmi ces tamias, 12 tamias, dont deux infectés, portaient des tiques. Aussi ces données ne permettent pas d'avoir une bonne représentation du risque d'infection à la sortie du terrier, sans exposition de tiques à l'affût.

4.3.2. Maintien de l'infection des tamias avant et après l'hibernation

Niveau individu :

Au total, 10 tamias ont été capturés infectés en *B. burgdorferi* sl avant leur entrée en hibernation et recapturés à leur sortie d'hibernation :

- un tamia est à nouveau infecté après l'hibernation, ceci avec la même espèce de *B. burgdorferi* sl (*B. afzelii*) ;
- deux tamias sont infectés par une espèce de *B. burgdorferi* sl avant hibernation et par une autre espèce après hibernation (*B. afzelii* puis *B. burgdorferi* ss ou *B. burgdorferi* ss puis *B. afzelii*) ;
- sept tamias n'étaient plus infectés après l'hibernation.

Niveau population :

Au cours des années 2007 à 2010, la prévalence d'infection moyenne des tamias avant hibernation s'élève à 33 % (17 individus infectés sur 51) et à 48 % (28 individus infectés sur 58)

après hibernation. Les différences entre les deux périodes ne sont pas statistiquement significatives (ddl = 1, Chi² = 1,92, p = 0,16). La prévalence de la population de tamias est équivalente entre l'entrée et la sortie d'hibernation.

4.3.3. Maintien de l'infection des tamias pendant la période d'activité des tiques et des tamias

Tamias adultes :

Sur les 33 tamias capturés au printemps et recapturés en automne, 29 tamias n'étaient pas infectés au printemps (Tableau 3). Parmi ces tamias, 12 sont restés non-infectés et 17 sont infectés à l'automne. Quatre tamias étaient déjà infectés au printemps, un individu était non-infecté à l'automne, un était infecté avec la même espèce de *B. burgdorferi* sl (*B. burgdorferi* ss) et deux avec une espèce différente de celle détectée au printemps (*B. afzelii* puis *B. burgdorferi* ss).

Tableau 3 : Statut d'infection en *B. burgdorferi* sl des tamias adultes au printemps et en automne.

Statut d'infection au printemps	Statut d'infection à l'automne		
	Non infecté	Infecté espèce 1	Infecté espèce 2
Non infecté	12	17	-
Infecté espèce 1	1	1	2

Jeunes de première cohorte (J1) :

Au total, 48 J1 ont été capturés à la sortie du terrier et recapturés dans leur année de naissance (Tableau 4).

Parmi les 43 tamias non-infectés à la sortie du terrier :

- 30 (70 % du nombre d'individus total) sont restés non-infectés durant leur année de naissance,
- 13 (30 %) ont été détectés infectés en *B. burgdorferi* sl.

Parmi les 5 J1 capturés infectés à la sortie du terrier, aucun n'a été détecté non-infecté ensuite. Quatre tamias sont restés infectés durant l'année avec la même espèce de *B. burgdorferi* sl que celle détectée à la sortie du terrier (*B. afzelii* ou *B. burgdorferi* ss) et un avec une espèce différente (*B. garinii* puis *B. burgdorferi* ss).

Tableau 4 : Statut d'infection en *B. burgdorferi* sl des jeunes tamias de première cohorte à la sortie du terrier et dans leur année de naissance.

Statut d'infection à la sortie du terrier	Statut d'infection dans l'année de naissance		
	Non infecté	Infecté espèce 1	Infecté espèce 2
Non infecté	30	13	-
Infecté espèce 1	0	4	1

Multiples captures :

Certains tamias ont été capturés plus de deux fois au cours de leur vie. Cinq exemples permettent d'illustrer les différents scénarios possibles de maintenance d'infection au sein des tamias (Tableau 5).

- l'individu a, adulte, a conservé l'infection en *B. burgdorferi* ss entre l'automne de sa première capture et l'automne suivant ;
- l'individu b, J1 non-infecté, s'infecte au cours de son année de naissance en *B. afzelii* ; au printemps suivant, il est toujours infecté en *B. afzelii* ; au cours de l'année n + 2, il est infecté en *B. garinii* ;
- l'individu c, J2 non-infecté à sa sortie du terrier, reste non-infecté de l'année n + 1 à l'année n + 3 au printemps ;
- l'individu d, J2 infecté en *B. afzelii* à sa sortie du terrier, est non-infecté au printemps suivant et infecté en *B. burgdorferi* ss à l'automne ;
- l'individu e, adulte non-infecté au printemps de l'année n et de l'année n + 1, est infecté en *B. afzelii* à l'automne de l'année n + 1 et à nouveau non-infecté au printemps de l'année n + 2.

Tableau 5 : Cinq scénarios de suivi du statut d'infection des tamias au cours de leur vie.
Statut d'infection en B. burgdorferi *sl : individu non-infecté (0), individu infecté par* B. burgdorferi *ss (SS),* B. afzelii *(AF),* B. garinii *(GA) ou individu pour lequel nous ne connaissons pas le statut d'infection (?). Print. = Printemps et Autom. = Automne*

Tamias	Année n		Année n + 1		Année n + 2		Année n + 3
	Print.	Autom.	Print.	Autom.	Print.	Autom.	Print.
(a)		SS	SS	SS			
(b)	0	AF	AF	?	GA		
(c)		0	0	0	0	?	0
(d)		AF	0	SS			
(e)	0	?	0	AF	0		

5. TRANSMISSION DE *B. BURGDORFERI* SL DU TAMIA DE SIBERIE AUX TIQUES

5.1. Objectifs

L'objectif de ce travail est d'étudier une caractéristique importante de la compétence d'un réservoir, à savoir la faculté de transmettre l'agent pathogène aux tiques, la faculté d'être source d'infection. Nous voulons ainsi tester d'une part si le tamia de Sibérie est capable de transmettre *B. burgdorferi* sl aux tiques *I. ricinus* et d'autre part, le cas échéant, s'il transmet toutes les espèces de *B. burgdorferi* sl qu'il héberge (*B. afzelii*, *B. burgdorferi* ss et *B. garinii*). Pour répondre à ces questions, nous avons utilisé deux types de données, collectées en milieu naturel :

(i) l'analyse de larves gorgées collectées sur des tamias infectés, afin de tester si un tamia infecté peut transmettre *B. burgdorferi* sl aux larves ;

(ii) l'identification de restes de repas sanguins des nymphes infectées collectées à l'affût, afin de tester qu'une larve s'étant infectée sur un tamia peut survivre jusqu'au stade de nymphe.

Cependant, ces hypothèses ne sont valides que si nous négligeons les autres sources d'infection possibles des larves : la transmission transovarienne des *B. burgdorferi* sl des adultes femelles aux larves et la transmission de *B. burgdorferi* sl par co-repas.

5.2. Matériels et méthodes

5.2.1. Analyse des larves gorgées

Sur les tamias capturés entre 2005 et 2009, nous avons conjointement prélevé des larves gorgées et une biopsie d'oreille, afin d'identifier dans ces deux prélèvements les espèces de *B. burgdorferi* sl. Les résultats sur les tamias infectés permettront de tester si des larves en cours de gorgement sont infectées par la même espèce de *B. burgdorferi* sl que le tamia. Les résultats de tamias non infectés permettront d'avoir une idée de l'existence des autres sources d'infection (co-repas et transmission transovarienne).

5.2.2. Restes de repas sanguins

Nous avons identifié l'hôte du précédent repas sanguin sur les nymphes à l'affût collectées en Forêt de Sénart entre 2007 et 2010 et chez lesquelles nous avions recherché *B. burgdorferi* sl. Si des nymphes infectées, s'étant gorgées au stade larve sur un tamia de Sibérie sont identifiées, nous aurons une forte présomption que l'infection de la nymphe provienne du tamia et donc que le tamia soit capable de transmettre les bactéries aux tiques.

5.3. Résultats

5.3.1. Larves gorgées

Entre 2005 et 2009, *B. burgdorferi* sl a été recherchée dans 229 larves gorgées collectées sur 65 tamias différents, dont 25 étaient infectés par *B. burgdorferi* sl. Parmi les 25 tamias infectés, 5 tamias avaient au moins une larve infectée, soit par la même espèce de *B. burgdorferi* sl (pour 5 tamias), soit par une autre espèce (pour 3 tamias) (Tableau 6). Parmi les 40 tamias non infectés, 5 d'entre eux avaient une larve infectée.

5.3.2. Restes de repas sanguins

Parmi les 2 055 nymphes analysées pour les repas sanguins, 629 (31 %) repas ont été identifiés avec succès. Parmi ces 629 nymphes, 94 se sont nourries sur le tamia et 8 d'entre elles étaient infectées par *B. burgdorferi* sl : 2 nymphes avec *B. afzelii*, 2 avec *B. burgdorferi* ss, 2 avec *B. valaisiana*, 1 avec *B. garinii* et 1 avec *B. spielmanii*.

Tableau 6 : Résultats concernant le statut d'infection des larves gorgées collectées sur le tamia de Sibérie.
Nombre de tamias non-infectés et infectés par B. burgdorferi *sl, nombre de tamias correspondants avec au moins une larve positive avec une espèce identique ou différente de* B. burgdorferi *sl, nombre moyen correspondant de larves analysées par tamia, pourcentage moyen correspondant de larves positives sur le nombre de larves analysées.*

Statut d'infection du tamia	Nombre de tamias	Nombre de tamias avec au moins une larve positive	Espèce de *B. burgdorferi* sl présente chez les larves et le tamia	Nombre moyen de larves par tamia	Pourcentage moyen de larves positives par tamia (%)
Non-infecté	40	5	-	3	54
Infecté	25	5	identique	5	41
		3	différente	5	39

PARTIE IV : QUANTIFICATION DE LA CONTRIBUTION RELATIVE DU TAMIA DE SIBERIE AU RISQUE ACAROLOGIQUE

L'objectif de ce travail est de quantifier la capacité de réservoir du tamia au risque de la maladie de Lyme pour l'homme. En d'autres termes, il s'agit d'estimer la quantité de nymphes infectées à l'affût produites par le tamia, par rapport aux autres rongeurs réservoirs natifs, le campagnol roussâtre et le mulot sylvestre. Pour cela, deux approches ont été développées :

(i) l'analyse de données de captures des espèces potentiellement réservoirs ;

(ii) l'identification de l'hôte du dernier repas sanguin des tiques.

Le calcul de contribution à partir de données de captures (Mather et al. 1989) nécessite des données issues du terrain sur les densités en individus, les prévalences d'infection, les charges en tiques, ainsi que les données d'infectivité (proportion de nymphes infectées issues de larves s'étant gorgées sur un individu infecté), qui peuvent venir du terrain ou d'infection expérimentale. Pour disposer d'une vue complète du système, il faudrait, dans l'idéal, avoir ce type de données (captures et expérimentales) pour l'ensemble des populations d'hôtes du système étudié.

Le calcul de la contribution basé sur l'identification des repas sanguins, consiste à estimer la proportion de nymphes infectées s'étant gorgées sur une espèce par rapport à l'ensemble des nymphes analysées. Cependant, comme nous l'avons vu à la fin de la partie précédente, l'efficacité d'identification de l'hôte du repas sanguin est très faible (31 % des nymphes). Ceci est à combiner au fait que la prévalence d'infection de nymphes à l'affût est également faible (10 - 12 %) (CNR 2009). Ainsi, potentiellement moins de 3 % des nymphes, analysées pour *B. burgdorferi* sl et pour les restes de repas sanguins, sont susceptibles d'être infectées et identifiées. Sur les 2 055 nymphes à l'affût dont nous disposons, nous nous attendons donc a trouver moins de 60 nymphes infectées et dont l'hôte aura été identifié, ce qui paraît insuffisant pour décrire la complexité du système. Nous avons donc choisi de privilégier l'estimation de la contribution à partir des données de capture, en concentrant nos travaux sur la contribution relative du tamia par rapport aux autres rongeurs natifs et réservoirs de *B. burgdorferi* sl (campagnols roussâtres et mulots sylvestres). Pour chaque hôte, sur chaque site et pour chaque période, les intervalles de confiance des paramètres de l'indice de contribution ont été calculés, pour prendre en compte la variabilité des paramètres étudiés. De plus, les paramètres entrant en compte dans le calcul de la contribution sont susceptibles de varier dans le temps, suivant l'âge, le sexe et en fonction de la présence ou de l'absence d'espèces réservoirs.

Dans une première sous-partie, nous avons donc étudié la contribution du tamia suivant trois questions :

1. Quelle est la contribution du tamia de Sibérie au risque acarologique par rapport aux rongeurs réservoirs natifs ?
2. Comment varie la contribution du tamia au risque dans le temps et suivant l'âge ?
3. Quelle est l'influence de la présence du tamia sur la contribution des campagnols et mulots ?

Nous avons, pour chacune de ces questions, évalué le poids relatif des paramètres utilisés dans le calcul de la contribution. En d'autres termes, nous avons évalué, quel paramètre, entre la densité d'hôtes, la charge en tiques, la prévalence ou l'infectivité, influençait le plus la variation de la contribution.

En plus de ces questions, nous avons, dans une deuxième sous-partie, calculé une contribution "partielle" des oiseaux au risque, en comparant leur charge en tiques par rapport au tamia. En effet, nous n'avons pas mené une étude aussi complète sur les oiseaux que sur les rongeurs car nous n'avions pas assez de larves gorgées pour pouvoir estimer des prévalences d'infection des différentes espèces d'oiseaux. Nous avons cependant caractérisé la variabilité des charges en tiques des principales espèces d'oiseaux présentes en Forêt de Sénart (article en préparation, Annexe 3). Dans une troisième sous-partie, nous avons comparé les résultats de contribution obtenus à partir des données de capture avec ceux basés sur l'identification de repas sanguins, en ne considérant que les proportions de nymphes totales à l'affût produites par espèce d'hôte, et non de nymphes infectées, afin d'augmenter la précision des estimations. De plus, nous avons comparé les proportions de nymphes produites par le tamia avec celles de l'ensemble des hôtes vertébrés de la Forêt de Sénart. Enfin, dans une quatrième sous-partie, nous avons présenté un modèle statistique de variation de la densité de nymphes à l'affût, première étape de construction d'un modèle dynamique de circulation de *B. burgdorferi* sl dans le système d'hôtes, prenant en compte la dynamique du vecteur.

1. CALCUL DE CONTRIBUTION DES RONGEURS AU RISQUE ACAROLOGIQUE

1.1. Matériels et méthodes

1.1.1. Capture des rongeurs, charge en tiques et prévalence

Afin d'estimer la contribution du tamia au risque par rapport aux rongeurs natifs, des captures mensuelles de rongeurs ont été effectuées de mars à octobre en 2007 sur le Parc de la Faisanderie. L'étude n'a pas pu être prolongée, notamment en 2009, du fait de l'effondrement des populations de campagnols roussâtres et de mulots sylvestres. La variation temporelle de la contribution du tamia a été évaluée sur la base des captures mensuelles de tamias effectuées de mars

à octobre entre 2007 et 2010 dans le Parc de la Faisanderie. L'influence de la présence du tamia sur la contribution des campagnols roussâtres et de mulots sylvestres a été étudiée en comparant la contribution des rongeurs natifs entre les sites avec tamias et les sites sans tamia en 2008. Ce même dispositif d'étude avait été mis en place en 2009, mais suite à l'effondrement des populations de campagnols roussâtres et mulots sylvestres, nous n'en avons piégé aucun cette année-là. Au laboratoire, les tiques des campagnols roussâtres et mulots sylvestres présentes sur l'ensemble du corps ont été dénombrées sous la loupe binoculaire et collectées pour identification (Pérez-Eid 2007) ; une biopsie d'oreille a été également effectuée pour la recherche de *B. burgdorferi* sl. Les tiques présentes sur les tamias ont été dénombrées sur les animaux vivants (dénombrement uniquement sur la tête, Pisanu et al. 2010) et une biopsie d'oreille a été prélevée. Les tamias ont été ensuite relâchés. Pour les analyses, l'année a été découpée en quatre périodes : A = mars - avril, B = mai - juin, C = juillet - août, D = septembre - octobre. Ces périodes correspondent à la dynamique des populations de tamias (sortie d'hibernation, émergence des jeunes de première cohorte, dispersion des jeunes de première cohorte et émergence des jeunes de seconde cohorte) mais aussi à celle des tiques, avec en général une faible activité en période A, un pic d'activité en période B puis une baisse d'activité entre la période C et D.

1.1.2. Evaluation des densités de rongeurs

Pour chaque période de chaque année, sur chaque site, les densités en rongeurs ont été estimées par les méthodes présentées dans le paragraphe 5.2.3 de la Partie II. Les densités en campagnols roussâtres et mulots sylvestres ont été estimées à partir des piégeages effectués en mars, juin et septembre ; aussi, nous n'avons pas d'estimation pour la période C (juillet - août).

1.1.3. Estimation des prévalences d'infection et des charges en larves des rongeurs

Pour les questions concernant la contribution du tamia par rapport aux rongeurs natifs (question 1) et celle de la variation de la contribution en fonction du temps et de l'âge (question 2), nous avons estimé les prévalences d'infection et les charges en larves des rongeurs avec un modèle par espèce, avec respectivement une loi Binomiale et une loi de Poisson. Nous avons utilisé la loi de Poisson, plutôt que la loi Binomiale Négative classiquement utilisée pour modéliser les distributions de parasites, parce que nous avons utilisé des modèles mixtes pour lesquels il n'est pas possible d'utiliser la loi Binomiale Négative. En effet, pour les tamias, des modèles mixtes (Pinheiro and Bates 2000) ont été utilisés en intégrant un facteur aléatoire individu, permettant de prendre en compte les recaptures (Boyer et al. 2010). Pour les campagnols et mulots, un GLM classique a été

utilisé. Les facteurs explicatifs étaient, pour la question 1) : la période en facteur fixe ; pour la question 2) la période et l'année en facteur fixe puis dans un autre modèle, la période, l'année et l'âge (adultes, J1, J2). Pour la question concernant l'influence de la présence du tamia sur la contribution des autres rongeurs (question 3), les effectifs de rongeurs capturés étaient trop faibles pour réaliser un modèle d'estimation des charges en larves et des prévalences d'infection. Nous avons donc calculé les moyennes, par site, des charges en larves et de prévalence d'infection du tamia de Sibérie, du campagnol roussâtre et du mulot sylvestre.

1.1.4. Estimation de la contribution

Pour estimer les contributions, nous avons utilisé l'indice de Mather (1989) que nous avons modifié. Cet indice correspond au produit de l'"infectivité spécifique" de l'espèce hôte par la charge en larves de l'hôte et par la densité d'hôtes. Mather et collaborateurs (1989) calculent l'"infectivité spécifique" comme la proportion de nymphes infectées produites dans la population de tamias étudiée. Or, nous n'avons pas ce type de données. Nous avons donc remplacé l'infectivité spécifique par le produit de l'infectivité "classique" par la prévalence d'infection dans la population. L'infectivité "classique" est définie comme la proportion de nymphes infectées issues de larves s'étant gorgées sur un individu infecté. Cette infectivité est généralement évaluée au laboratoire (Gern et al. 1998). Les données d'infectivité données par la littérature sont, pour le campagnol roussâtre et le mulot sylvestre, respectivement de 0,65 et de 0,54 (Humair et al. 1999). En l'absence de données sur le tamia de Sibérie, nous avons calculé l'infectivité à partir de données d'infection expérimentales effectuées sur deux tamias striés et présentées par McLean et collaborateurs (1993) (rapport du nombre de nymphes infectées produites sur le nombre initial de larves déposées). Ainsi, nous avons obtenu une infectivité de 0,44 pour le tamia strié, que nous avons utilisé pour le tamia de Sibérie. Pour une espèce d'hôte donnée, nous avons calculé le nombre de nymphes infectées produites par hectare à l'aide de la formule (1), à partir de l'indice de Mather modifié (prise en compte de la prévalence d'infection et de l'infectivité séparément) par le produit de la densité d'hôtes, de la charge en larves, de la prévalence d'infection et de l'infectivité :

(1) **Nymphes infectées = Densité x Charge x Prévalence x Infectivité**

avec Nymphes positives : le nombre de nymphes infectées produites par hectare ;
Densité : la densité d'hôtes estimée (nombre d'individus par hectare) ;
Charge : la charge en larves estimée par individu (modèle ou moyenne),
Prévalence : la prévalence d'infection en *B. burgdorferi* sl estimée (modèle ou moyenne) ;
Infectivité : l'infectivité de l'espèce (taux).

L'autre modification que nous avons faite, par rapport à l'indice de Mather, est de calculer des intervalles de confiance associés à chaque estimation. Ces intervalles sont issus des écarts types des facteurs fixes et du facteur aléatoire, quand il est utilisé. Nous avons comparé les estimations obtenues pour le tamia par rapport à celles du campagnol et par rapport à celles du mulot avec des tests de Chi^2.

Pour déterminer les paramètres prépondérants dans le calcul d'indice de contribution, le poids de chacun des paramètres a été estimé :

- pour le tamia de Sibérie, le campagnol roussâtre et les mulots sylvestres à la Faisanderie en 2007 ;
- pour le tamia de Sibérie à la Faisanderie entre années (2007 à 2010) et entre périodes (A à D) ;
- pour le tamia de Sibérie, le campagnol roussâtre et le mulot sylvestre sur les sites avec tamias en 2008.

Pour les sites sans tamia en 2008, nous n'avons pas pu calculer le poids des paramètres (pour le campagnol et le mulot) car la contribution était nulle du fait que la prévalence d'infection pour des deux espèces était de 0 %.

A partir de la formule de l'indice de contribution, nous travaillons en logarithme de l'espérance pour rendre la formule additive. En effet, Y = A x B équivaut à log(Y) = log(A) + log(B). Nous obtenons : log(Nymphes positives) = log(Densité) + log(Charge) + log(Prévalence) + log(Infectivité). Pour chaque site à chaque période, nous utilisons les paramètres moyens estimés pour calculer cette expression et déterminer en proportion (par rapport au total de la somme) le poids de chaque paramètre dans le calcul de l'indice. Par exemple, pour calculer le poids du paramètre A dans la formule Y = A x B, nous calculons le log(A) et le log(B), puis nous faisons la somme des deux (total) et divisons la valeur du log(A) par la valeur de la somme pour obtenir la proportion du paramètre A dans le calcul de Y. Ainsi, nous avons un profil de proportions de chacun des paramètres, que l'on représente sur un graphique.

1.2. Résultats

1.2.1. Contribution du tamia par rapport aux rongeurs natifs en 2007

- <u>Effectifs de tamias de Sibérie, de campagnols roussâtres et de mulots sylvestres à la Faisanderie en 2007</u>

Au total, en 2007 à la Faisanderie, il y a eu 998 captures de tamias de Sibérie, dont 427 individus différents (Tableau 7). 305 campagnols roussâtres et 72 mulots sylvestres ont été sacrifiés.

Tableau 7 : Effectifs de tamias de Sibérie, de campagnols roussâtres et de mulots sylvestres capturés à la Faisanderie en 2007 entre les périodes A et D.

Espèces	2007			
	A	B	C	D
Tamia de Sibérie	162	425	204	207
Campagnol roussâtre	68	74	69	94
Mulot sylvestre	16	25	22	9

- Densités d'hôtes

Pour les périodes considérées, les densités varient entre 4 et 8 ind. / ha pour le tamia de Sibérie, entre 5 et 12 ind. / ha pour le campagnol roussâtre et entre 0 et 12 ind. / ha pour le mulot sylvestre (Figure 23). Le tamia tend à être toujours en plus faible densité que le campagnol et le mulot, sauf pour la période D, où le mulot était absent. Nous ne pouvons cependant pas rejeter l'hypothèse H0 comme quoi il n'y a pas de différence entre ces valeurs (les intervalles de confiance se chevauchent).

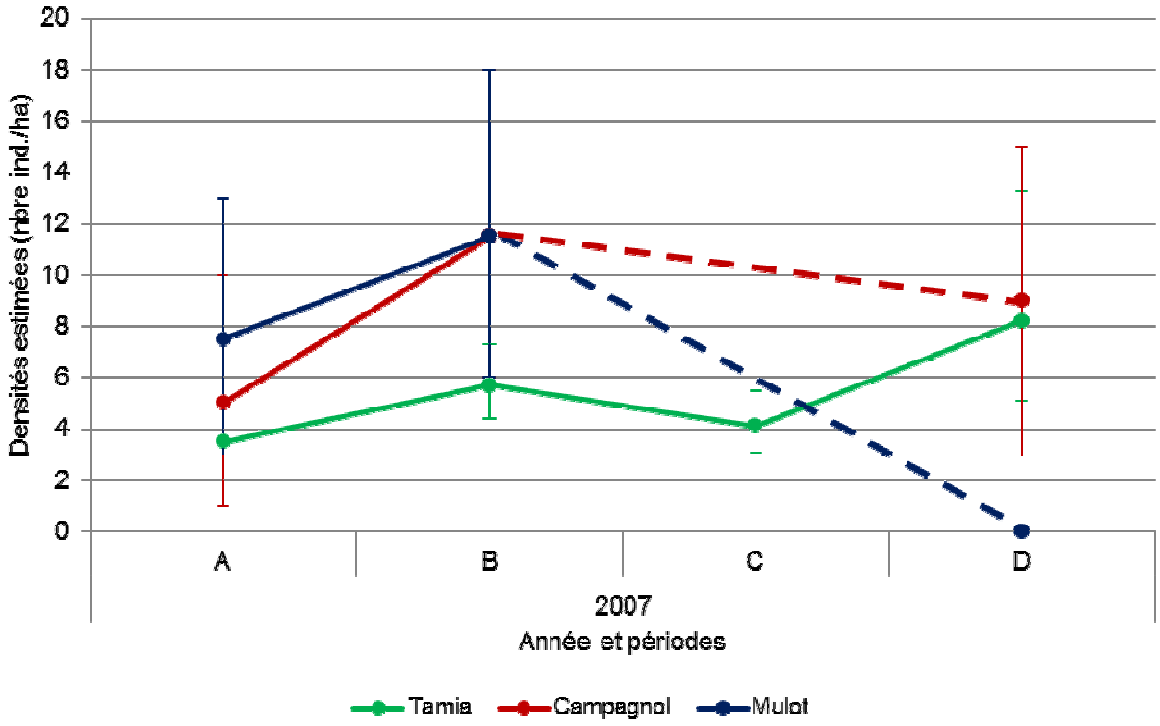


Figure 23 : Densités estimées de tamias de Sibérie, de campagnols roussâtres et de mulots sylvestres pour les périodes A à D en 2007 (Faisanderie).
Les barres d'erreur correspondent aux intervalles de confiance à 95 %.

- Charges en larves

Pour le tamia de Sibérie, les charges estimées varient entre 2 larves / ind. (intervalles de confiances à 95 % : [0;24]) en période A, à 25 [2;367] en période B, 25 en période C [2;358] et à 13

[1;192] en période D. Les campagnols roussâtres hébergent entre 1 et 8 tiques / ind. et les mulots sylvestres entre 1 et 13 tiques / ind. Nous n'avons pas pu détecter de différences significatives entre le nombre de larves *I. ricinus* hébergées chez le tamia par rapport aux autres espèces (Figure 24), du fait des intervalles de confiance très importants.

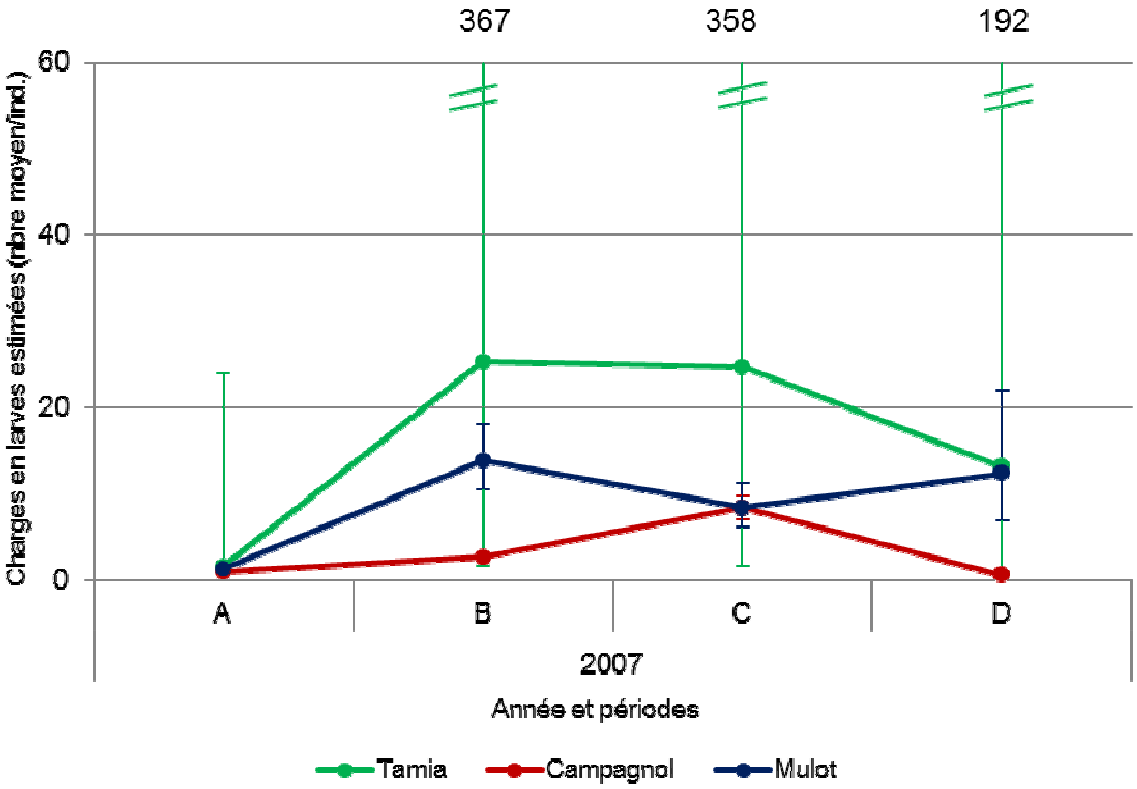


Figure 24 : Charges estimées en larves pour le tamia de Sibérie, le campagnol roussâtre et le mulot sylvestre pour les périodes A à D en 2007 (Faisanderie).
Les barres d'erreur correspondent aux intervalles de confiance à 95 %.

- Prévalences d'infection

La prévalence d'infection de la population de tamias de Sibérie en 2007 est compris entre 40 et 70 % ; celle des campagnols roussâtres entre 15 et 25 % ; et celle des mulots sylvestres entre 0 et 12 % (Figure 25). Les intervalles de confiance pour le mulot, n'ont pu être calculés en raison d'effectifs par période inférieurs ou égaux à 1. La prévalence d'infection du tamia semble supérieure à celle du campagnol et du mulot en 2007, quelle que soit la période, mais nous ne pouvons pas rejeter l'hypothèse H0 comme quoi il n'y a pas de différence entre ces valeurs (les intervalles de confiance se chevauchent).

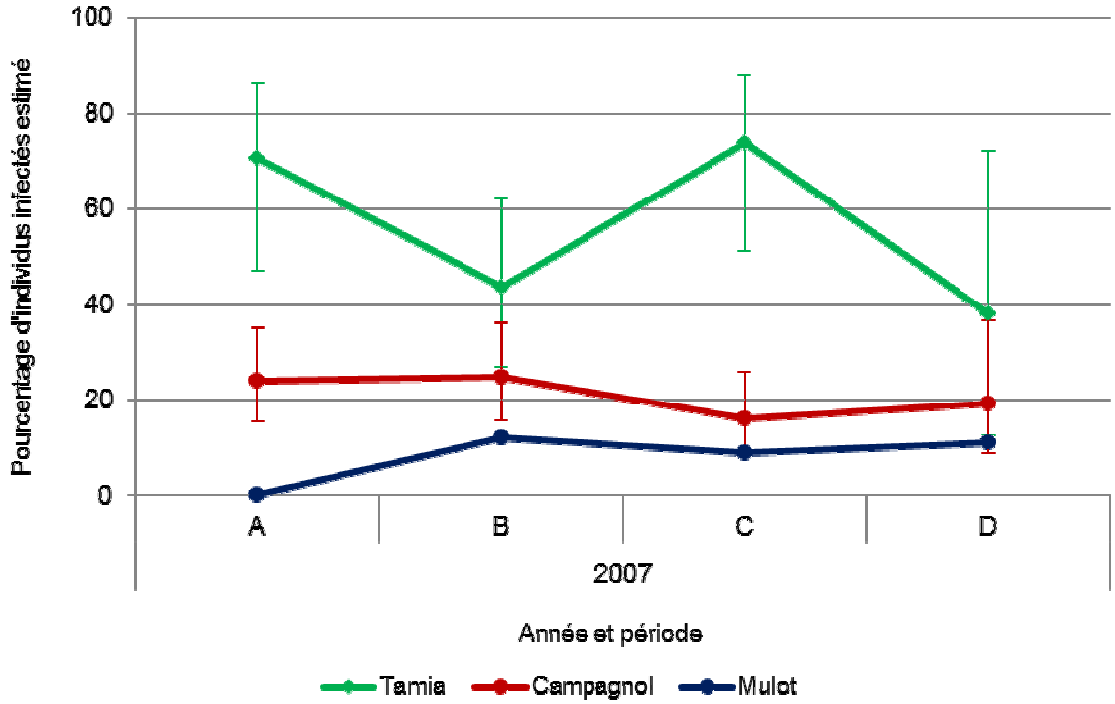


Figure 25 : Prévalences estimées d'infection du tamia de Sibérie, du campagnol roussâtre et du mulot sylvestre aux périodes A à D en 2007 (Faisanderie).

Les barres d'erreur correspondent aux intervalles de confiance à 95 %.

- Estimation des contributions - production de nymphes infectées à l'affût

La population de tamia de Sibérie produit 2 [0;10] nymphes infectées à l'affût en période A, 28 [2;65] en période B, 33 [1;65] en période C et 18 [0;68] en période D. Les campagnols roussâtres en produisent entre 1 et 5 et les mulots sylvestres entre 0 et 10 (Figure 26). Le tamia de Sibérie semble produire un nombre plus élevé de nymphes infectées à l'affût que le campagnol roussâtre et le mulot sylvestre ; sauf en période A, pour laquelle la production de nymphes infectées est quasiment nulle pour les 3 espèces. Mais nous ne pouvons pas rejeter l'hypothèse H0 comme quoi il n'y a pas de différence entre ces valeurs (les intervalles de confiance se chevauchent).

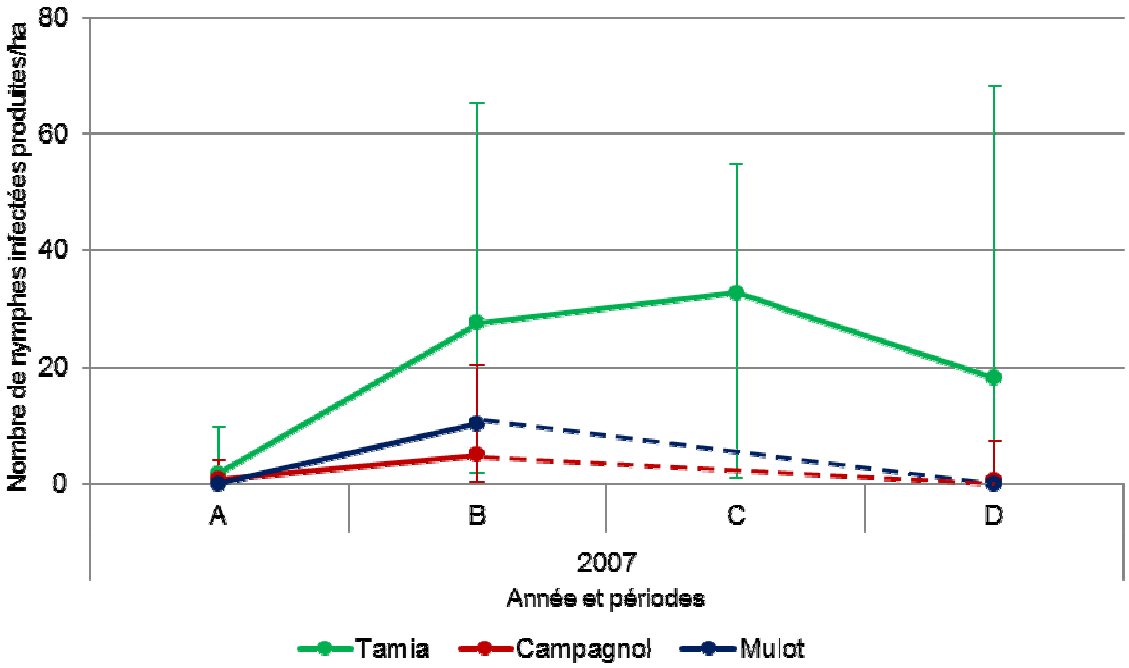


Figure 26 : Nombre estimé de nymphes infectées produites par période en 2007 par le tamia de Sibérie, le campagnol roussâtre et le mulot sylvestre (Faisanderie).
Les barres d'erreur correspondent aux intervalles de confiance à 95 %.

- Poids des paramètres dans le calcul de contribution

A la Faisanderie en 2007, le paramètre principal du calcul de contribution du tamia de Sibérie est la charge en larves (49 %), suivi par la densité (28 %) (Figure 27). Pour le campagnol roussâtre, le paramètre principal est la densité (41 %) et pour le mulot sylvestre, la charge en larves (32 %) et la prévalence (33 %) sont équivalentes.

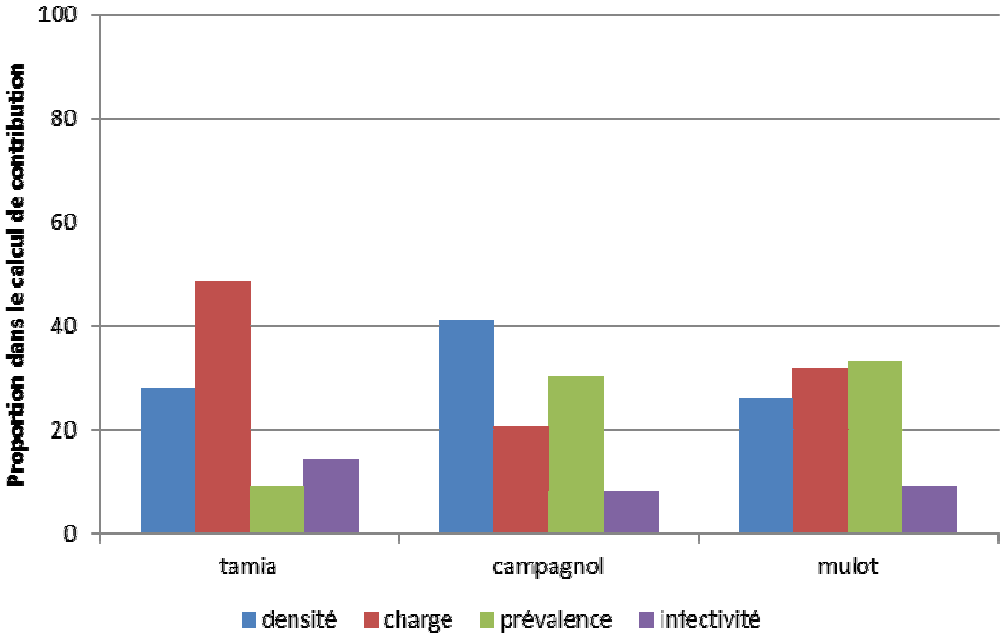


Figure 27 : Poids des paramètres du calcul de contribution pour le tamia de Sibérie, le campagnol roussâtre et le mulot sylvestre en 2007 (Faisanderie).

1.2.2. Comment varie la contribution du tamia de Sibérie dans le temps et suivant l'âge ?

- Effectifs de tamias de Sibérie à la Faisanderie entre 2007 et 2010

Au total, 2 050 captures de tamias ont été réalisées entre 2007 et 2010, dont 807 individus différents (Tableau 8). Sur les 2 050 captures, 999 sont des adultes, 820 des jeunes de première cohorte (J1) et 231 jeunes de seconde cohorte (J2).

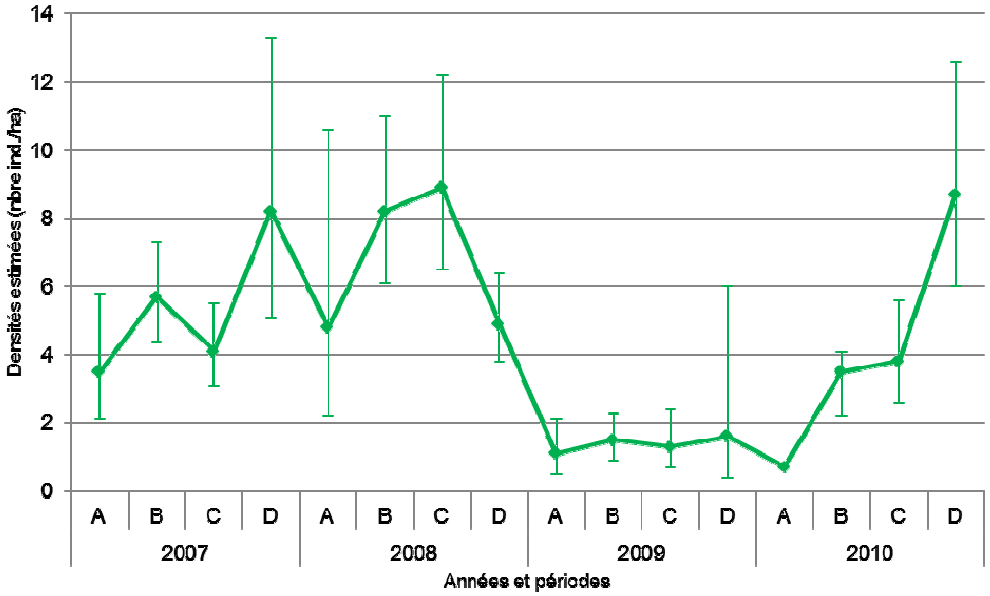
Tableau 8 : Effectifs de tamias de Sibérie capturés à la Faisanderie entre 2007 et 2010 suivant les périodes et les classes d'âges (adultes J1 et J2).

Périodes	2007			2008			2009			2010		
	adultes	J1	J2	adultes	J1	J2	adultes	J1	J2	adultes	J1	J2
A	162	0	0	62	9	0	20	0	0	10	1	0
B	230	195	0	78	117	0	55	0	0	35	62	0
C	89	114	1	100	89	0	25	0	0	30	81	2
D	25	59	123	44	45	15	15	0	45	19	48	45

- Densités d'hôtes

Les densités de tamias sont équivalentes et relativement élevées en 2007 et 2008 (Figure 28) et supérieures à 4 ind. / ha. Elles diminuent fortement en 2009, avec moins de 2 ind. / ha pour toutes les périodes et augmentent progressivement en 2010, pour dépasser à nouveau 4 ind. / ha. L'évolution de densités de tamias adultes entre 2007 et 2010 est comparable à celle de la population globale, excepté en 2010 (Figure 28). Pour les jeunes de première cohorte (J1), l'évolution de la densité similaire à celle des adultes en 2007 et 2008 pour les périodes B et D et en augmentation en 2010. La population n'a pas produit de J1 en 2009. La densité de J2 à la période D, autour de 2 ind. / ha, est similaire entre 2007 et 2010.

(a) Population de tamias de Sibérie



(b) Tamias adultes, jeunes de première cohorte (J1) et jeunes de deuxième cohorte (J2)

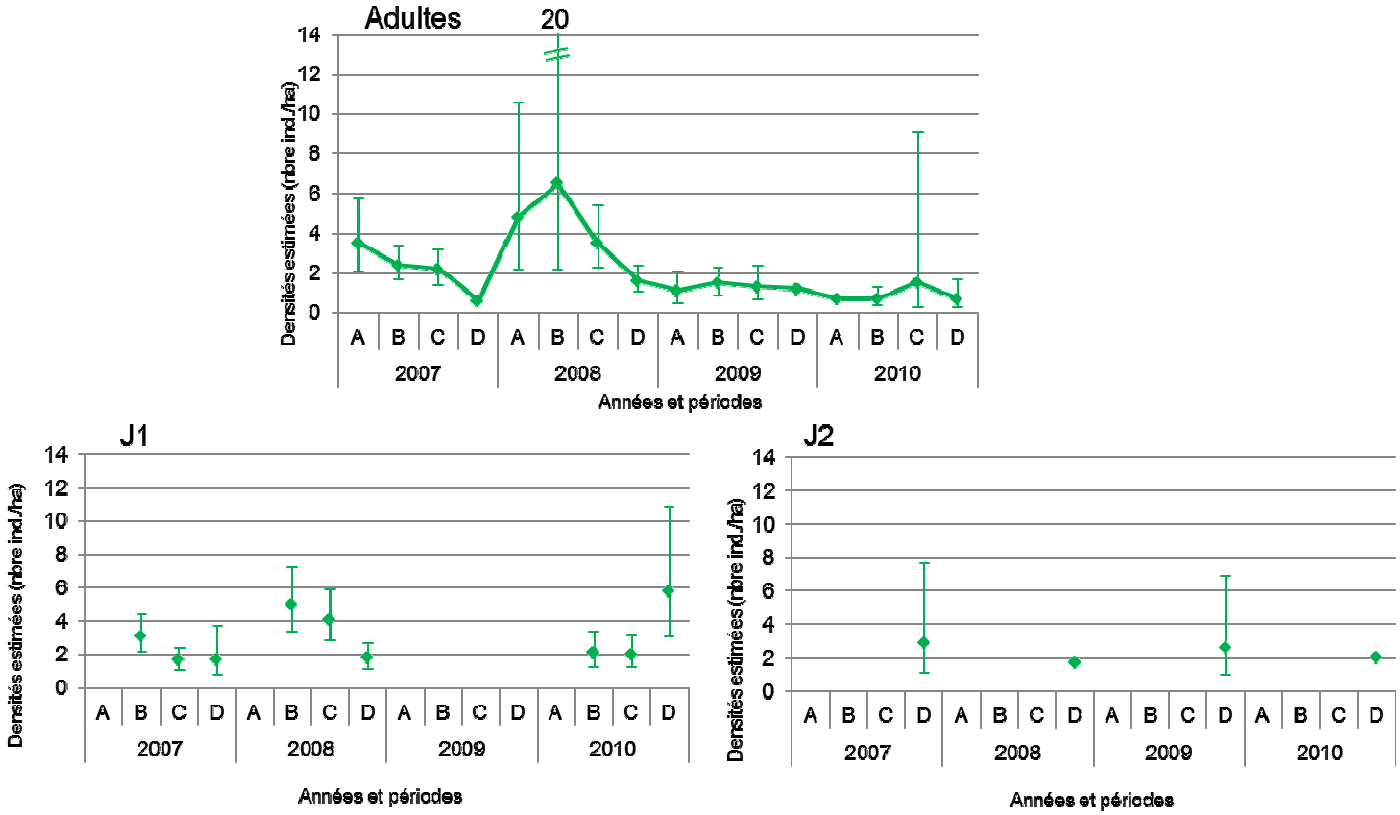


Figure 28 : Densités estimées (a) de la population de tamias de Sibérie, (b) des tamias de Sibérie suivant la classe d'âge pour les périodes A à D entre 2007 et 2010 (Faisanderie).
Les barres d'erreur correspondent aux intervalles de confiance à 95 %.

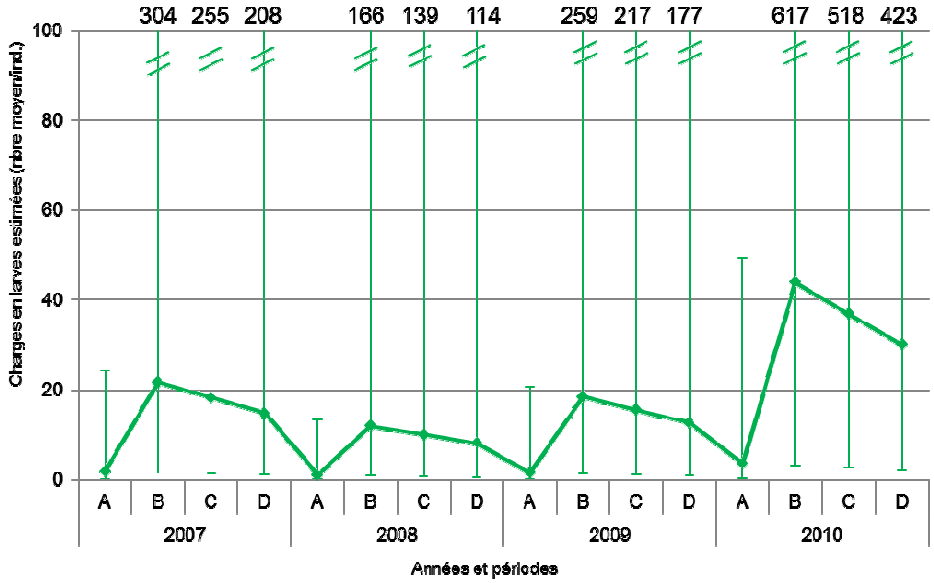
- Charges en larves

La charge estimée en larves des tamias de Sibérie est quasiment nulle en période A, maximale en période B et diminue progressivement entre la période B et D (Figure 29). Des charges plus élevées sont observées en 2010 par rapport aux autres années, avec un maximum de 40 larves / ind. en période B.

Les tamias adultes tendent à porter plus de larves que les J1 et que les J2 (Figure 29), mais nous ne pouvons pas rejeter l'hypothèse H0 comme quoi il n'y a pas de différence entre ces valeurs. La variation temporelle des charges en larves des adultes est proche de celle de la population, avec des effectifs de larves hébergées globalement supérieurs.

Les J1 ont des charges en larves relativement constantes entre la période B et D, sauf en 2009. Les J2 hébergent très peu de larves par rapport aux adultes et aux J1.

(a) Population de tamias de Sibérie



(b) Tamias adultes, jeunes de première cohorte (J1) et jeunes de deuxième cohorte (J2)

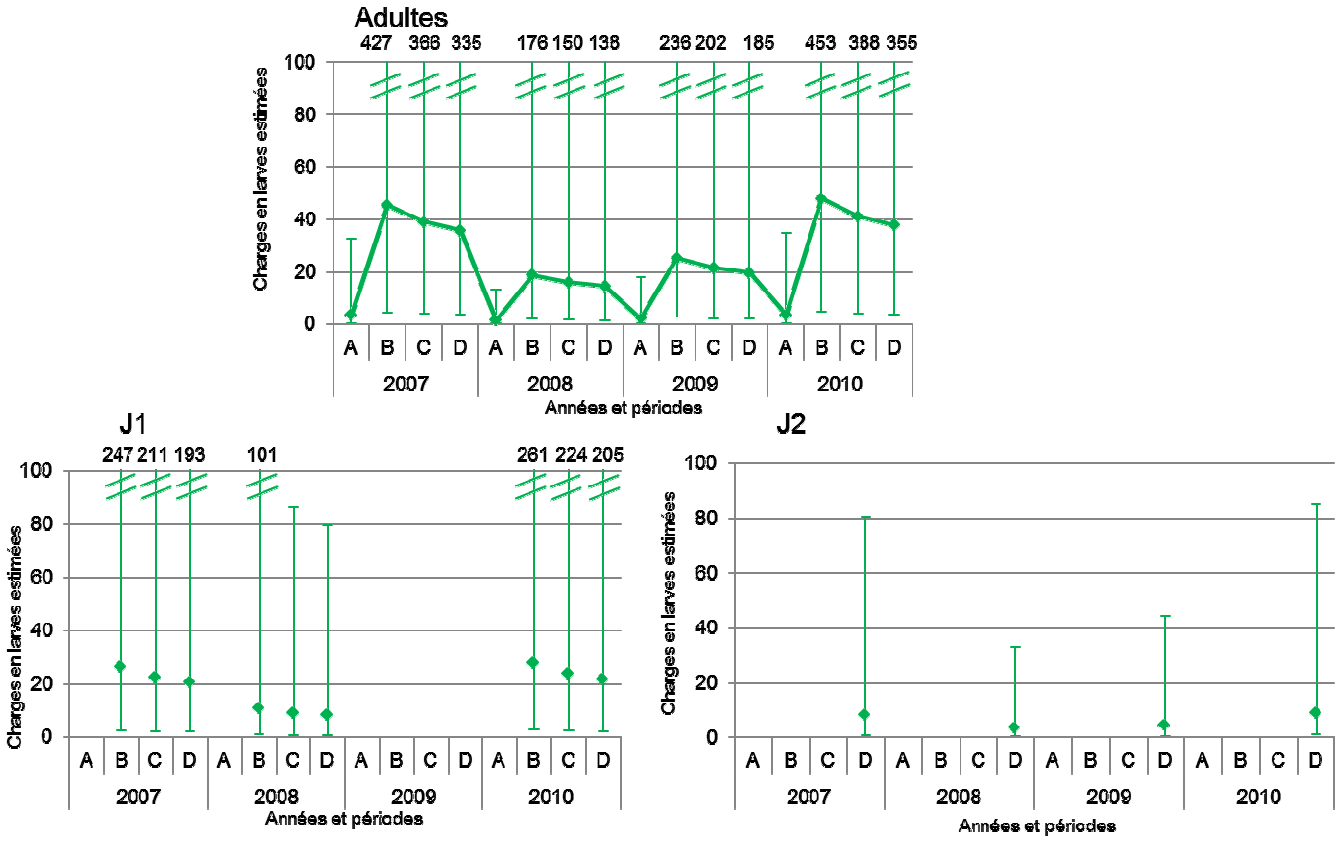


Figure 29 : Charges estimées en larves (a) de la population de tamias de Sibérie, (b) des tamias de Sibérie suivant la classe d'âge pour les périodes A à D entre 2007 et 2010 (Faisanderie).
Les barres d'erreur correspondent aux intervalles de confiance à 95 %.

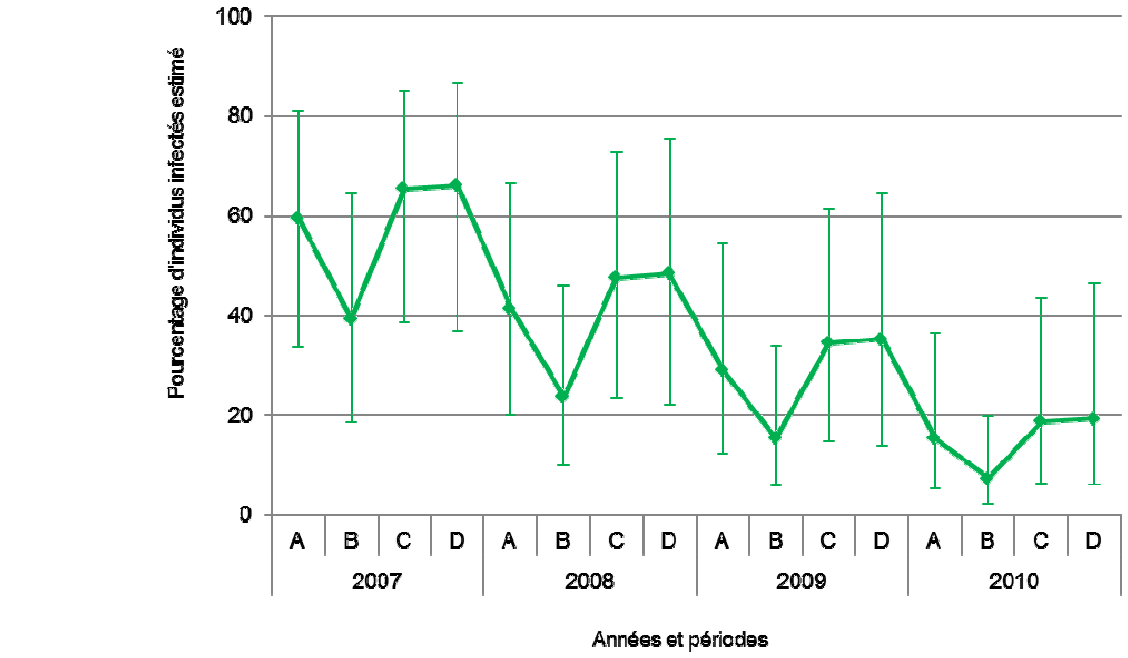
- Prévalences d'infection

Un pic de prévalence est observé chaque année pour les périodes C et D (Figure 30), durant lesquelles la prévalence d'infection de la population de tamias de Sibérie atteint 70 % [40;90] en 2007, 50 % [20;70] en 2008, 40 % [10;60] en 2009 et 20 % [10;40] en 2010. Globalement, le niveau de prévalence de la population de tamias semble diminuer entre 2007 et 2010, mais nous ne pouvons pas rejeter l'hypothèse H0 comme quoi il n'y a pas de différence entre ces valeurs.

Aux périodes C et D, les prévalences d'infection des tamias de Sibérie adultes sont de 80 % [50;90] en 2007, 60 % [30;90] en 2008 et 2009, et 30 % [10;60] en 2010 (Figure 30).

La prévalence d'infection des J1 augmente progressivement chaque année de la période B à D (de 30 à 70 % en 2007, de 20 à 50 % en 2008 et de 10 à 20 % en 2010). Les J2 sont infectés à un taux de 40 % [10;70] en 2007, 20 % [10;60] en 2008 et 2009 et 10 % [0;30] en 2010. Comme pour la population générale, le niveau global de prévalence semble diminuer chaque année pour les J1 et les J2.

(a) Population de tamias de Sibérie



(b) Tamias de Sibérie adultes, jeunes de première cohorte (J1) et jeunes de deuxième cohorte (J2)

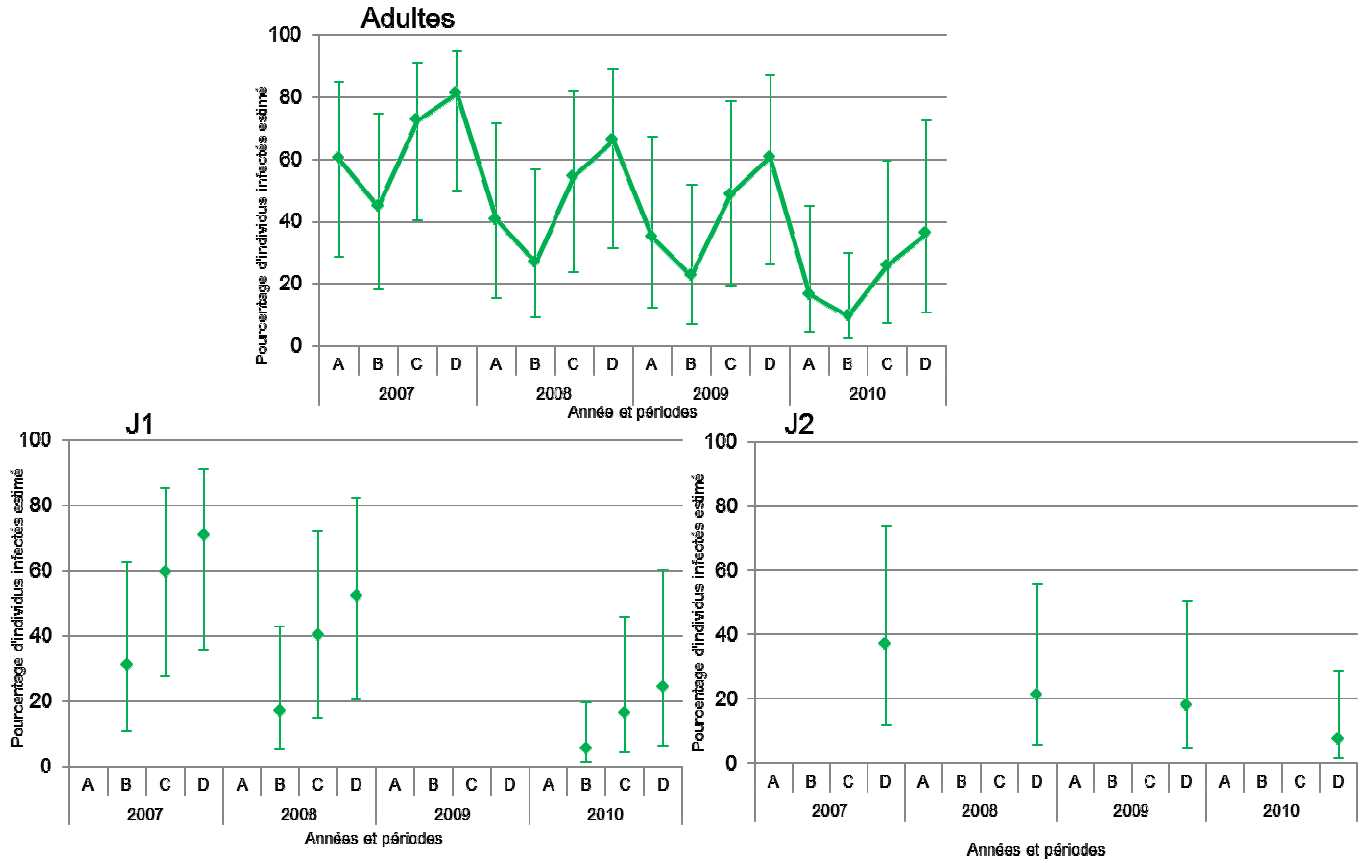


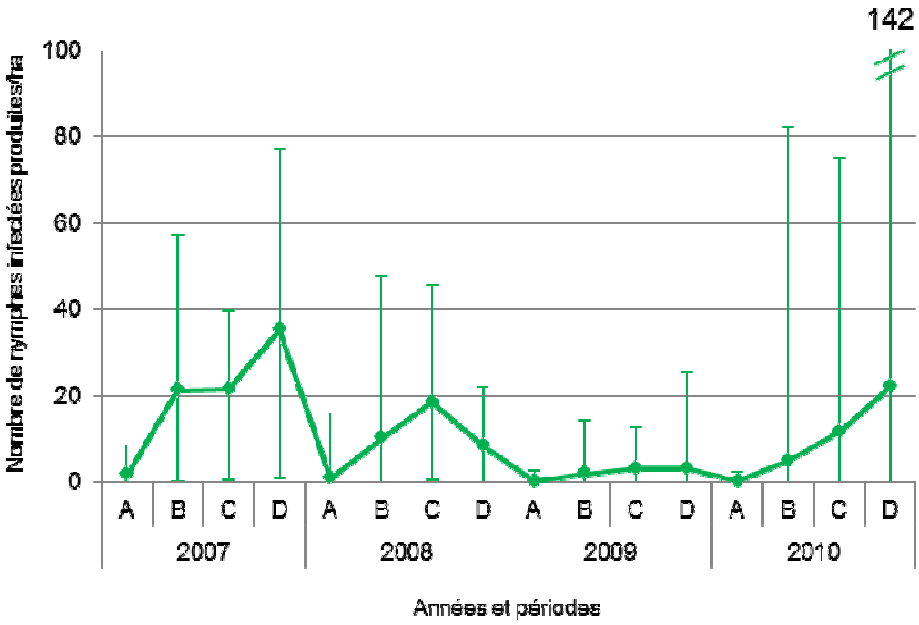
Figure 30 : Prévalences estimées d'infection (a) de la population de tamias de Sibérie (b) des tamias de Sibérie suivant la classe d'âge entre 2007 et 2010 aux périodes A à D (Faisanderie).
Les barres d'erreur correspondent aux intervalles de confiance à 95 %.

- Estimation des contributions - production de nymphes infectées à l'affût

La production de nymphes infectées par hectare est maximale pour la population de tamias de Sibérie à la période D en 2007 (35 nymphes infectées produites / ha [1;77]) et à la période C en 2008 (18/ha [1;46]) (Figure 31). La contribution au risque acarologique des tamias diminue en 2009 (entre 0 et 3 / ha), puis augmente en 2010 (22 / ha en période D).

La même évolution est observée pour les tamias adultes (Figure 31). Les J1, quant à eux, produisent globalement tous les ans (2009 excepté) le même nombre de nymphes infectées à l'affût (10/ha). Les J2 produisent environ 4 nymphes infectées à l'affût en 2007 à la période D et ensuite moins d'une nymphe infectée / ha entre 2008 et 2010.

(a) Population de tamias de Sibérie



(b) Tamias de Sibérie adultes, jeunes de première cohorte (J1) et jeunes de deuxième cohorte (J2)

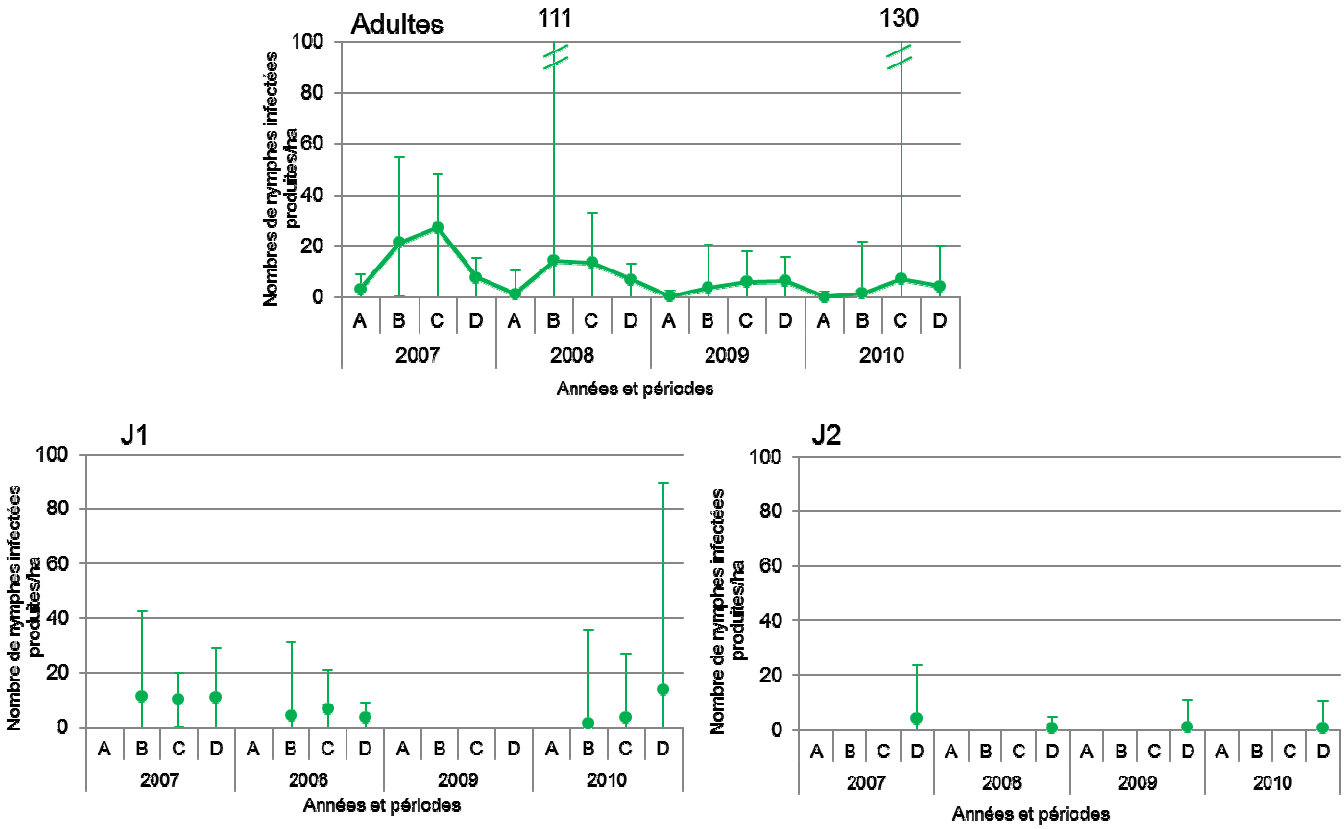


Figure 31 : Nombre estimé de nymphes infectées produites/ha par période entre 2007 et 2010 pour (a) la population de tamias de Sibérie, (b) les tamias de Sibérie suivant la classe d'âge (Faisanderie).
Les barres d'erreur correspondent aux intervalles de confiance à 95 %.

- Poids des paramètres dans le calcul de contribution

Le calcul des poids des paramètres entre les années montre que les paramètres qui ont le plus de poids dans le calcul de la contribution sont, en 2007 et 2008, la charge en larves et la densité de tamias de Sibérie, qui représentent respectivement jusqu'à 47 % et 33 % du paramètre. En 2009 et 2010, c'est uniquement la charge en larves qui a le poids le plus important dans le calcul d'indice de contribution, avec plus de 50 % (Figure 32).

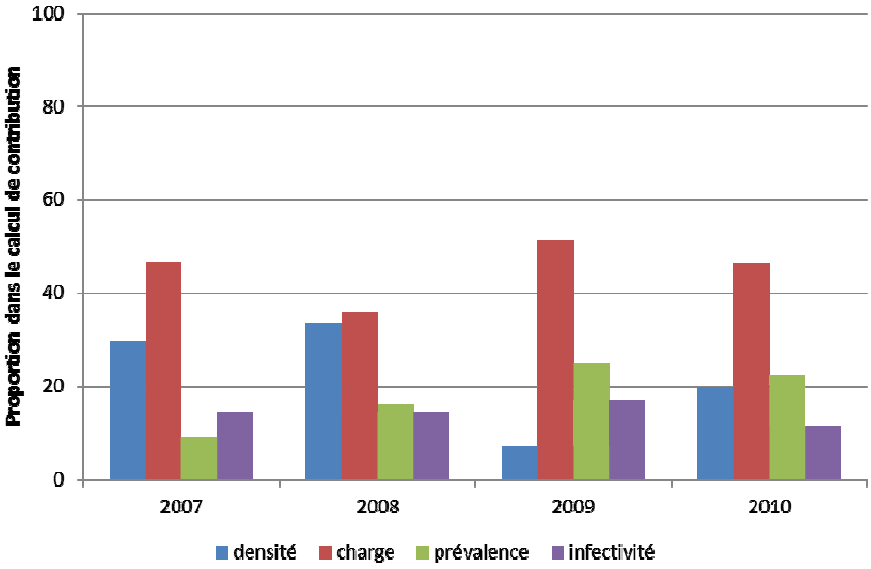


Figure 32 : Poids des paramètres du calcul de contribution pour le tamia de Sibérie entre 2007 et 2010 (Faisanderie).

Le calcul des poids des paramètres par période montre que la contribution de la période A n'est pas influencée par un paramètre en particulier. Pour les périodes B, C et D, la charge en larves est prépondérante (par exemple 48 % à la période C) (Figure 33).

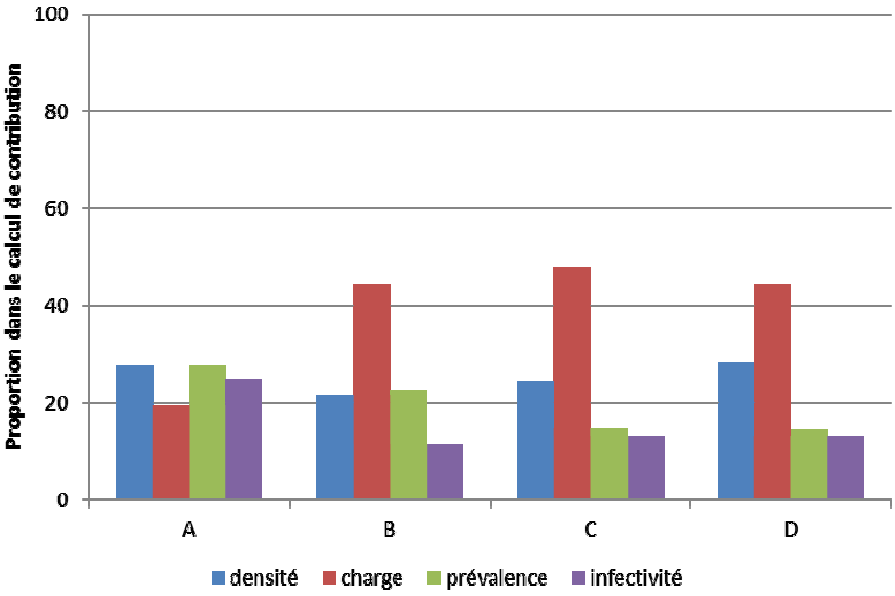


Figure 33 : Poids des paramètres du calcul de contribution pour le tamia de Sibérie entre les périodes (toutes années - de 2007 à 2010- confondues, Faisanderie).

1.2.3. Contribution des rongeurs natifs sur les sites avec et sans tamias

- Effectifs de tamias de Sibérie, de campagnols roussâtres et de mulots sylvestres sur les sites avec et sans tamias en 2008

Au total, en 2008, sur les sites avec tamias, il y a eu 23 captures de tamias de Sibérie différents (Tableau 9). 45 campagnols roussâtres et 35 mulots sylvestres ont été capturés sur les sites avec tamias, et 37 campagnols et 37 mulots sur les sites sans tamia.

Tableau 9 : Effectifs de tamias de Sibérie, de campagnols roussâtres et de mulots sylvestres capturés sur les sites avec et sans tamias (avril 2008).

Espèce	Avec tamias		Sans tamia	
	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4
Tamia de Sibérie	10	13	-	-
Campagnol roussâtre	22	23	15	20
Mulot sylvestre	27	10	27	10

- Densités d'hôtes

Les densités de campagnols roussâtres et de mulots sylvestres sont d'environ 10 ind. / ha sur les sites avec et sans tamias, avec un maximum pour le campagnol sur le site 1 avec une densité de 18 ind. / ha [10;27]. Le tamia de Sibérie, avec une densité de 1 à 2 ind. / ha., est en faible densité sur les sites avec tamias (Figure 34).

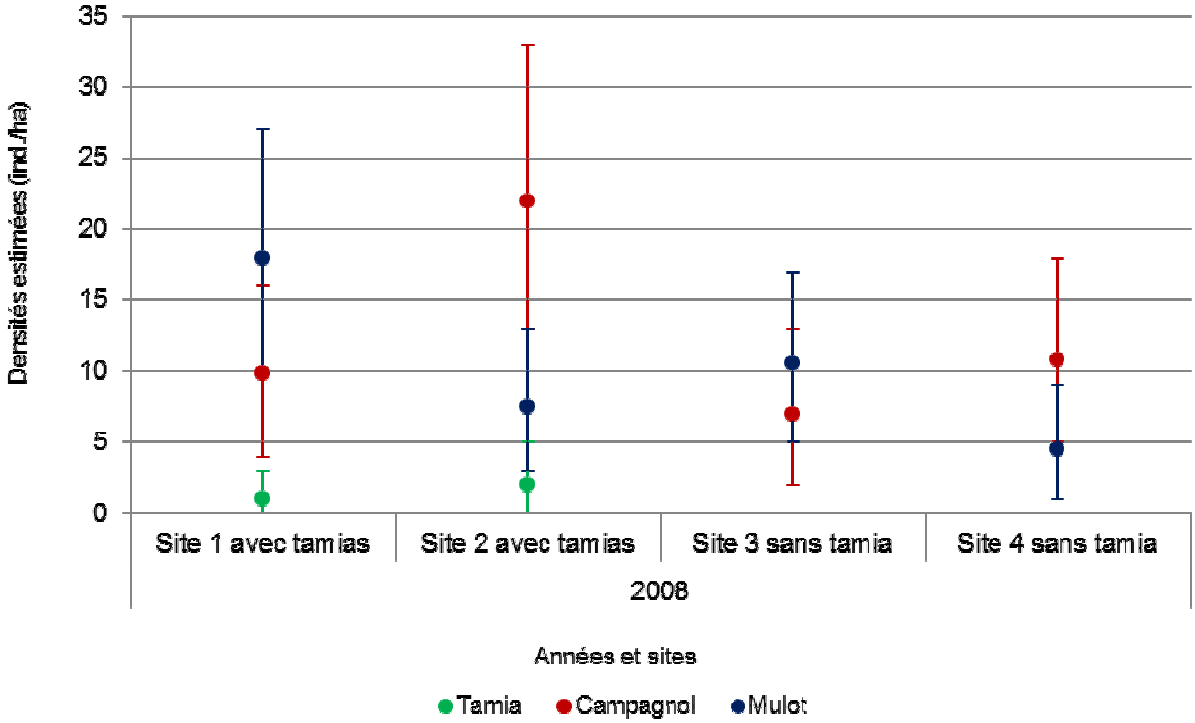


Figure 34 : Densités estimées du tamia de Sibérie, du campagnol roussâtre et du mulot sylvestre sur les sites avec et sans tamias (avril 2008).
Les barres d'erreur correspondent aux intervalles de confiance à 95 %.

- Charges en larves

Les charges en larves des campagnols roussâtres et des mulots sylvestres sont faibles (moins de 1 / ind.) sur tous les sites à cette période de l'année (avril). Le tamia de Sibérie héberge 2,5 larves / ind. [1,5;3,4], ce qui est faible mais semble supérieur au campagnol et au mulot (Figure 35).

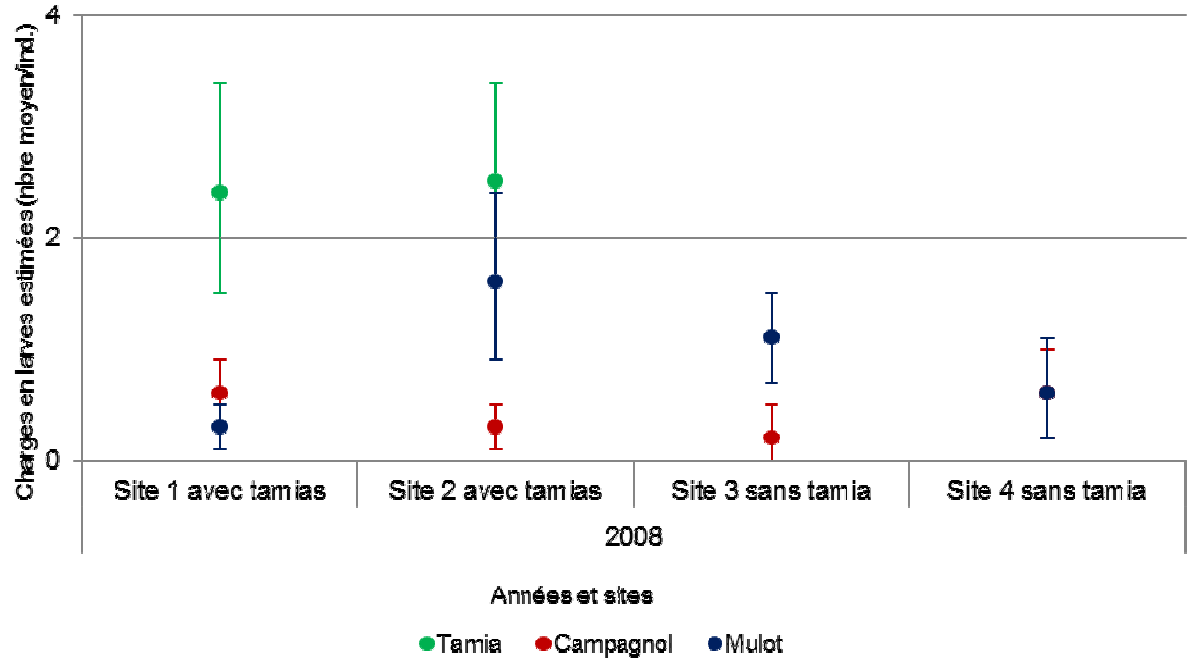


Figure 35 : Charges estimées en larves du tamia de Sibérie, du campagnol roussâtre et du mulot sylvestre sur les sites avec et sans tamias (avril 2008).
Les barres d'erreur correspondent aux intervalles de confiance à 95 %.

- Prévalences d'infection

Sur le site 1 avec tamias, les campagnols roussâtres ont une prévalence d'infection de 50 % [30;70] (Figure 36). Sur les autres sites, les prévalences des campagnols roussâtres sont faibles (10 % [0;20] sur le site 2 avec tamias) voire nulles (sites sans tamia). Les prévalences d'infection sont faibles (inférieures à 10 %) pour le mulot sylvestre, voire nulles sur les sites avec et sans tamias. Les tamias de Sibérie ont une prévalence d'infection de 20 % [0;50] sur le site 1 et de 40 % [20;60] sur le site 2.

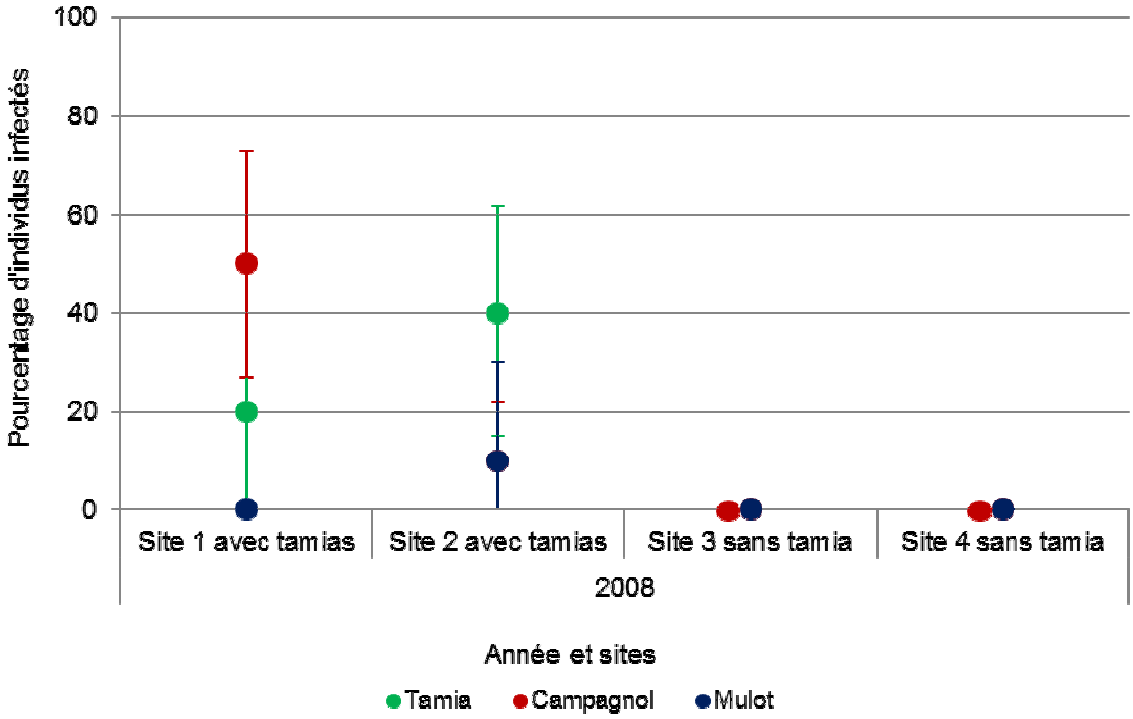


Figure 36 : Prévalences estimées d'infection des tamias de Sibérie, campagnols roussâtres et mulots sylvestres sur les sites avec et sans tamias (avril 2008).
Les barres d'erreur correspondent aux intervalles de confiance à 95 %.

- Estimation des contributions - production de nymphes infectées à l'affût

Le campagnol roussâtre produit respectivement 2 [1;4] et 0,5 [0;1,3] nymphes sur les sites 1 et 2 avec tamias. Cette espèce ne produit aucune nymphe infectée sur les sites sans tamia. La contribution à la production de nymphes infectées du mulot sylvestre est nulle pour le site 1 et les sites sans tamia (Figure 37). Elle s'élève à 0,5 [0;1,3] nymphes infectées produites sur le site 2. Le tamia de Sibérie produit moins de 1 nymphe infectée sur les sites avec tamias.

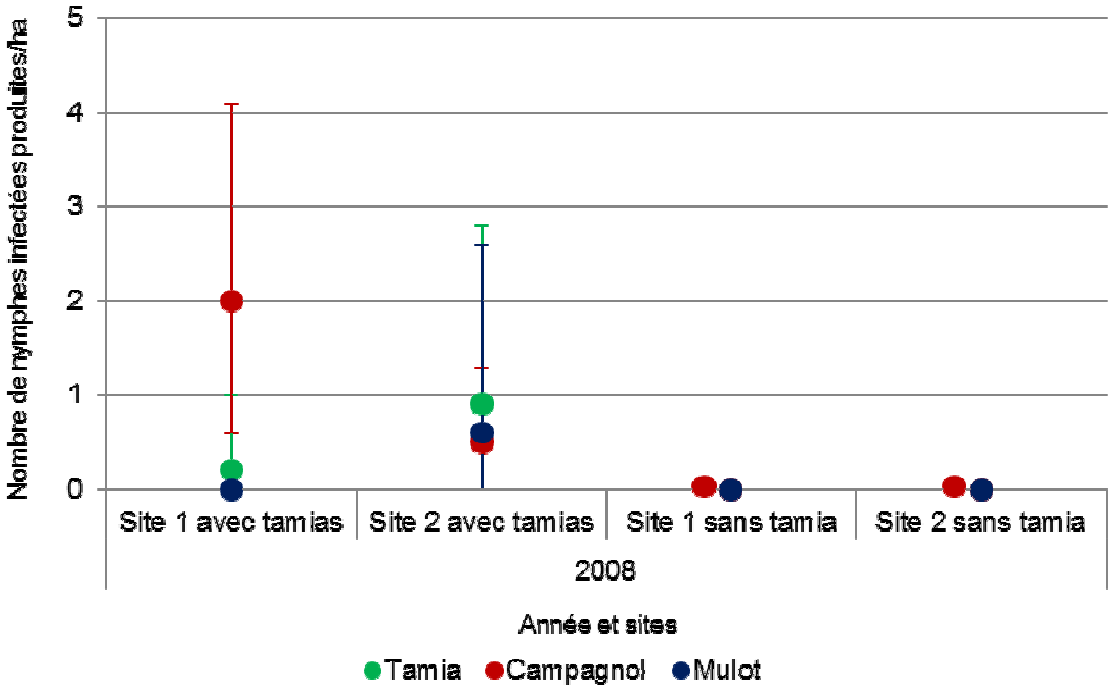


Figure 37 : Nombre estimé de nymphes infectées produites par les tamias de Sibérie, les campagnols roussâtres et les mulots sylvestres sur les sites avec et sans tamias (avril 2008).
Les barres d'erreur correspondent aux intervalles de confiance à 95 %.

- Poids des paramètres dans le calcul de contribution

Pour les sites avec tamias en 2008, le paramètre principal du calcul de contribution du campagnol roussâtre est la densité (54 %). Pour le mulot sylvestre, les paramètres principaux sont la densité (41 %) et la prévalence (48 %) (Figure 38). Pour le tamia de Sibérie, le paramètre principal est la prévalence (36 %), suivi par la charge en larves (27 %)

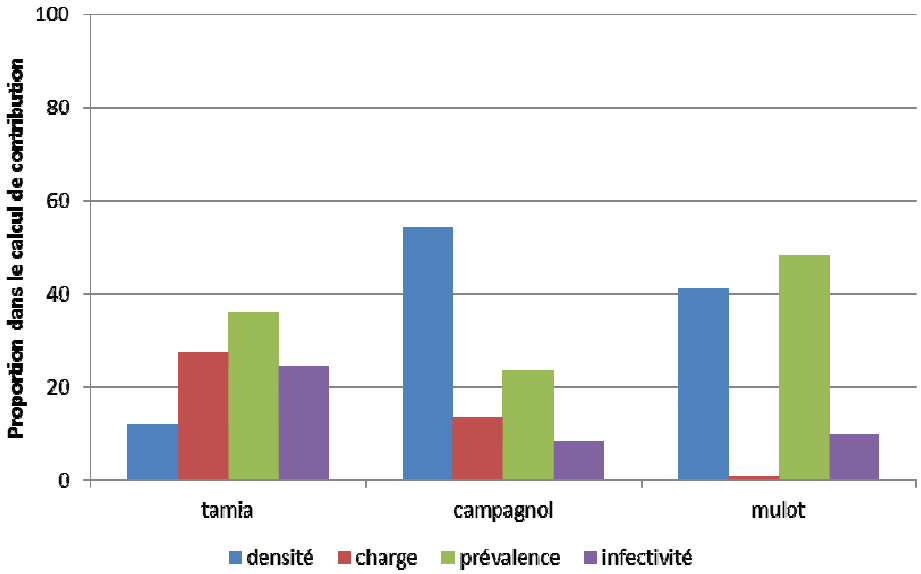


Figure 38 : Poids des paramètres du calcul de l'indice de contribution pour le tamia, le campagnol et le mulot en 2008 sur les sites avec tamias.

2. COMPARAISON DES CHARGES EN TIQUES DU TAMIA DE SIBERIE ET DES OISEAUX (ANNEXE 3)

2.1. Matériels et méthodes

Les charges en tiques des oiseaux ont été comptées sur les individus capturés en 2008 et 2009 sur les sites avec et sans tamias et à la Faisanderie, suivant le protocole décrit dans le paragraphe 5.2.2 de la Partie II. Nous présenterons les charges en tiques par espèces d'oiseaux sur l'ensemble de ces sites pour les deux années. Puis, nous comparerons les charges en tiques observées des oiseaux et du tamia sur les sites avec tamias en 2008.

2.2. Résultats

Un total de 458 oiseaux a été examiné pour les tiques, avec une majorité d'espèces de passereaux (445 individus de 18 espèces mais aussi 13 pics). Les espèces les plus capturées sont le rouge-gorge familier (*Erithacus rubecula*), la mésange charbonnière (*Parus major*), le merle noir (*Turdus merula*) et la fauvette à tête noire (*Sylvia atricapilla)*, qui représentaient respectivement 22 %, 21 %, 12 % et 9 % des captures.

Des tiques ont été trouvées sur 238 individus, et un total de 2 671 tiques a été identifié. Tous les spécimens de larves et de nymphes correspondent à des *I. ricinus*. Les oiseaux hébergeaient en moyenne 5,8 tiques, dont 78 % de larves et 22 % de nymphes. Parmi les individus infestés, la charge moyenne en tiques était de 11,2 tiques par individu. Les charges en tiques sont très différentes suivant les espèces d'oiseaux (Figure 39). Les espèces du genre *Turdus* (comprenant le merle noir et la grive musicienne *Turdus philomelos*), ainsi que le rouge-gorge familier et l'accenteur mouchet (*Prunella modularis)* sont les espèces les plus infestées par *I. ricinus*. Le geai des chênes (*Garrulus glandarius*) est très infesté par les tiques (avec plus de 10 tiques en moyenne), mais nous n'avons examiné que 2 animaux.

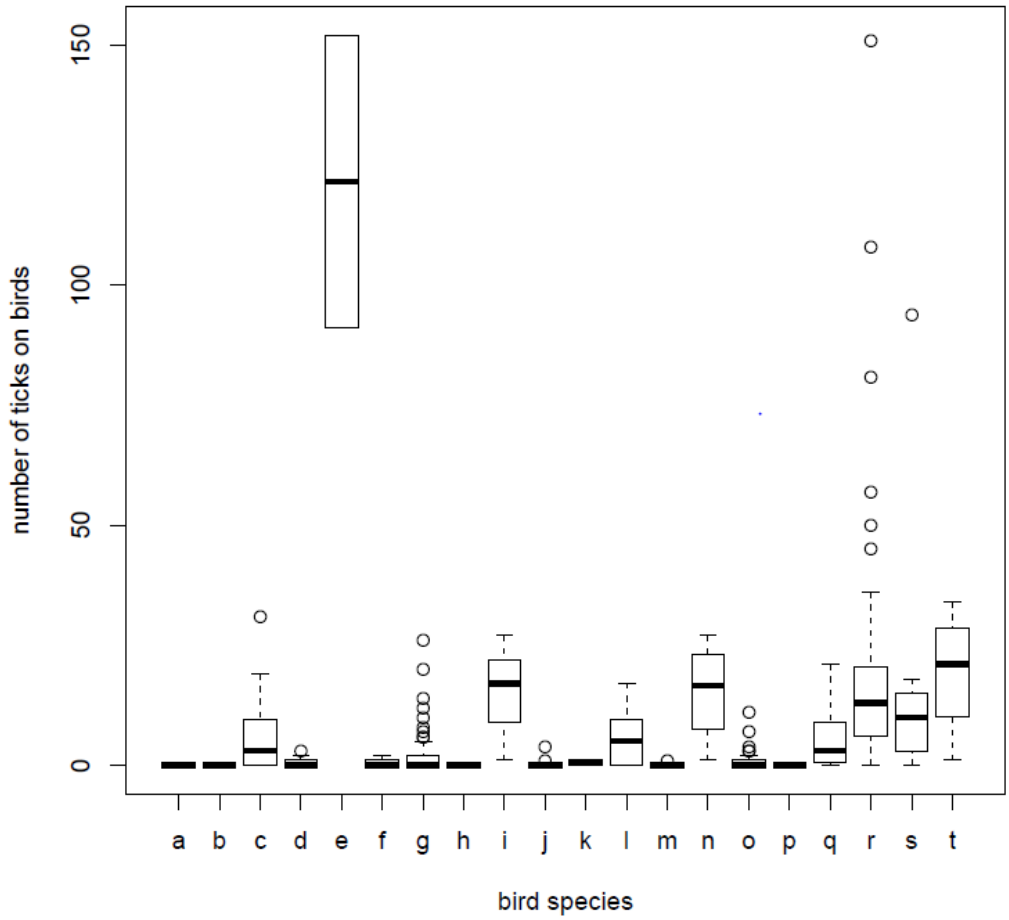


Figure 39 : Boîte à moustaches du nombre de tiques par espèce d'oiseaux.
a= Certhia brachydactyla (n=7), b=Dendrocopos major (n=11), c=Erithacus rubecula (n=99), d=Fringilla coelebs (n=14), e=Garrulus glandarius (n=2), f=Parus caeruleus (n=13), g=Parus major (n=98), h=Parus palustris (n=14), i=Phoenicurus phoenicurus (n=3), j=Phylloscopus collybita (n=28), k=Picus viridis (n=2), l=Prunella modularis (n=8), m=Sitta europaea (n=7), n=Sturnus vulgaris (n=4), o=Sylvia atricapilla (n=41), p=Sylvia borin (n=3), q=Troglodytes troglodytes (n=32), r=Turdus merula (n=55), s=Turdus philomelos (n=13), t=Turdus viscivorus (n=4).

Sur les sites avec tamias, les espèces qui hébergent le plus de tiques en général, hébergent en moyenne 12,7 tiques pour le merle noir (n=24), 4,8 tiques pour la grive musicienne (n=5), 3,4 tiques pour le rouge-gorge familier (n=40) et 5,8 tiques pour l'accenteur mouchet (n=8). Le tamia héberge en moyenne 11,5 tiques sur les sites avec tamias. Le tamia héberge un nombre de tiques équivalent à l'oiseau le plus infesté, le merle noir, et supérieur aux autres espèces d'oiseaux.

3. COMPARAISON DES CONTRIBUTIONS ESTIMEES A PARTIR DE DONNEES DE CAPTURES ET A PARTIR DE L'ANALYSE DES REPAS SANGUINS

Grâce à l'analyse des données de repas sanguins, nous voulons obtenir deux informations. D'une part, nous souhaitons comparer les proportions estimées de production de nymphes à l'affût entre cette méthode et celle des données de capture. D'autre part, nous voulons estimer la

proportion de nymphes produites par le tamia par rapport aux autres vertébrées (petits mammifères, oiseaux, lézards, moyens mammifères et grands mammifères).

3.1. Matériels et méthodes

Nous comparons les deux méthodes de contribution (par les captures et par l'analyse de repas sanguin) en comparant les proportions de nymphes produites pour chaque espèce, estimées pour chaque méthode, à partir des jeux de données suivants :

- par espèce de rongeurs (tamia de Sibérie, campagnol roussâtre et mulot sylvestre) en 2007 à la Faisanderie ;
- par année pour les tamias de Sibérie entre 2007 et 2010 à la Faisanderie ;
- par espèce de rongeurs et par site pour les sites avec et sans tamias en 2008.

3.1.1. Calcul des proportions de nymphes produites à partir des données de capture

A partir des données de capture, nous calculons la contribution des espèces à la production de nymphes à l'affût, qu'elles soient infectées ou non. Pour un hôte donné, le nombre de nymphes produites correspond au produit de la densité d'hôtes par la charge en larves et par le taux de succès de mue de larves gorgées aux nymphes présenté en formule (2) :

(2) **Nymphes = Densité x Charge x Mue**

avec Nymphes : nombre de nymphes produites par hectare ;
Densité : densité estimée d'hôtes (nombre d'individu par hectare) ;
Charge : charge estimée en larves par individu ;
Mue : taux de succès de mue de larves gorgées à nymphes à l'affût par espèce hôte.

Les estimations de densité et de charges en larves sont celles utilisées dans le paragraphe 1 de la Partie IV. Les taux de succès de mue sont obtenues d'après les données de la littérature qui indiquent 0,06 et 0,33 pour le campagnol roussâtre et le mulot sylvestre respectivement (Humair et al. 1999). N'ayant pas trouvé de données concernant le tamia de Sibérie, nous avons pris le taux de 0,5 indiqué pour le tamia strié (McLean et al. 1993). Nous calculons ensuite les proportions de nymphes produites de chaque espèce relativement aux trois espèces de rongeurs (Faisanderie 2007 et sites avec et sans tamias 2008) et pour le tamia relativement entre les années (2007 à 2010).

3.1.2. Calcul des proportions de nymphes produites à partir des repas sanguins

Les collectes de nymphes à l'affût ont été effectuées sur le Parc de la Faisanderie tous les mois entre mars et octobre de 2007 à 2010 et sur les sites avec et sans tamias entre avril et juin 2008. Parmi les nymphes collectées sur les différents sites d'étude à chaque session de collecte, un maximum de 30 nymphes a été analysé, au hasard, pour l'identification du repas sanguin. Pour un site donné, une période donnée, la proportion de nymphes produite par une espèce A est calculée comme le rapport du nombre de nymphes s'étant nourries sur l'espèce A sur le nombre de nymphes total avec un repas sanguin identifié. Nous calculons les intervalles de confiance associés à ces estimations à partir de simulations basées sur une loi Binomiale, dont les paramètres correspondent aux estimations. Nous n'avons pas calculé les proportions de nymphes produites par les rongeurs sur les sites avec et sans tamias, car les effectifs étaient trop faibles (entre 10 et 17 individus prélevés par site).

Nous faisons l'hypothèse que l'échantillonnage par la méthode du drapeau et le choix au hasard des 30 nymphes permettent d'obtenir des résultats représentatifs de la population totale de nymphes (c'est-à-dire que nous considérons que Ni est représentatif de Nt, voir Figure 40). Nous ne prenons pas en compte les différences de précision des estimations venant du fait que, suivant les sites, nous avons analysé des proportions différentes de nymphes par rapport au nombre total de nymphes collectées. En effet, nous avons toujours analysé au maximum 30 nymphes par site et par session de collecte, alors que le nombre total de nymphes collectées pouvait varier de 0 à plus de 500.

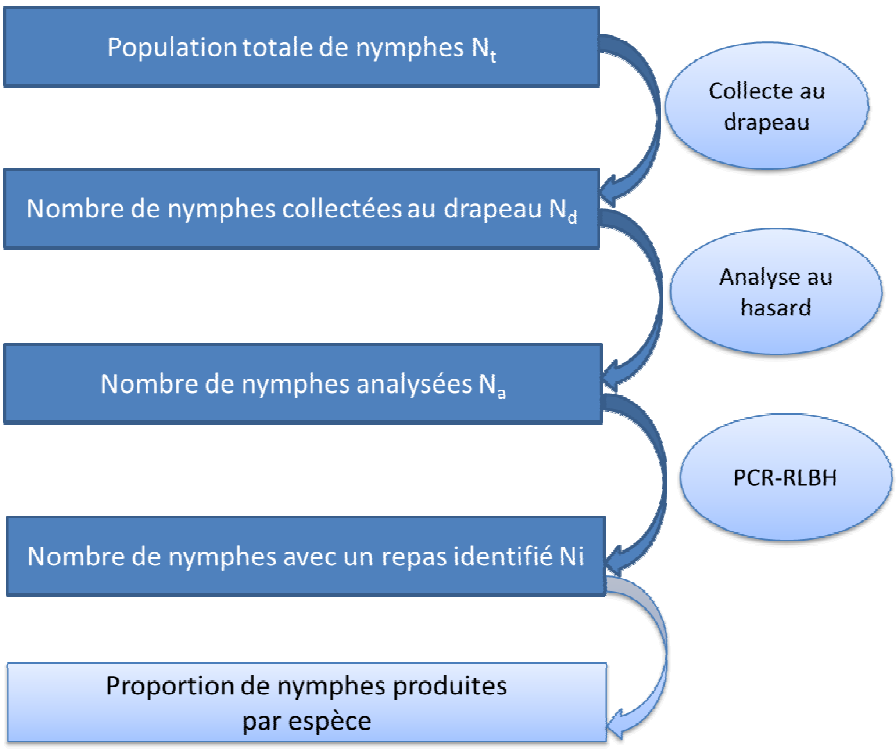


Figure 40 : Schéma illustrant le nombre de nymphes collectées et analysées par la méthode d'identification de repas sanguins.
Ce schéma est valable dans un site donné pour une session de collecte donnée, avec
N_t : nombre total de nymphes à l'affût
N_d : nombre de nymphes collectés au drapeau
N_a : nombre de nymphes analysées (maximum 30)
N_i : nombre de nymphes pour lesquels le repas sanguin a été identifié
Proportion de nymphes produites pour une espèce A= Ni sur l'espèce A / Ni

Pour comparer la contribution du tamia à la production de nymphes à celle des autres hôtes de la Forêt de Sénart, nous avons regroupé les vertébrés en plusieurs groupes : (i) le tamia de Sibérie, (ii) les grands mammifères (chevreuil, sanglier), qui ne sont pas réservoirs de *B. burgdorferi* sl, (iii) les mammifères de taille moyenne (renard, lièvre, lapin, hérisson), dont le statut de réservoir est peu connu, (iv) les petits mammifères (campagnol roussâtre, mulot sylvestre, souris *Mus musculus*, rats *Rattus norvegicus* et *R. rattus*, musaraigne du genre *Sorex* et *Crocidura*), (v) toutes les espèces d'oiseaux et (vi) les reptiles, qui sont réservoirs de *B. burgdorferi* sl (Annexe 4).

3.2. Résultats

3.2.1. Proportion de nymphes produites par le tamia de Sibérie et les rongeurs natifs à la Faisanderie en 2007

Le calcul basé sur les données de captures de rongeurs donne les productions de nymphes suivantes (Figure 41):

- pour le tamia de Sibérie : 180 nymphes à l'affût produites / ha (75 % du nombre total de nymphes produites par les rongeurs [71;81]) ;
- pour le campagnol roussâtre : 2 nymphes à l'affût produites / ha (1 % [0;2]) ;
- pour le mulot sylvestre : 56 nymphes à l'affût produites / ha (23 % [18;28]).

Parmi les 254 nymphes à l'affût analysées, 80 nymphes ont eu leur repas sanguin identifié. Parmi ces 80 nymphes 38 étaient associées aux rongeurs : 34 associées au tamia de Sibérie, 3 au campagnol roussâtre et 1 au mulot sylvestre. Les tamias de Sibérie, les campagnols roussâtres et les mulots sylvestres ont donc produit respectivement 89 % [79;97], 8 % [0;18] et 3 % [0;8] des nymphes à l'affût parmi les nymphes produites par les rongeurs (Figure 41). Les proportions relatives calculées par la méthode d'analyse de repas sanguins et avec les données issues des captures de rongeurs sont proches pour le tamia et campagnol (les intervalles de confiance se recoupent, Figure 41). Par contre, les proportions calculées à partir des données de captures de rongeurs sont supérieures pour le mulot à celles calculées à partir de l'identification des repas sanguins.

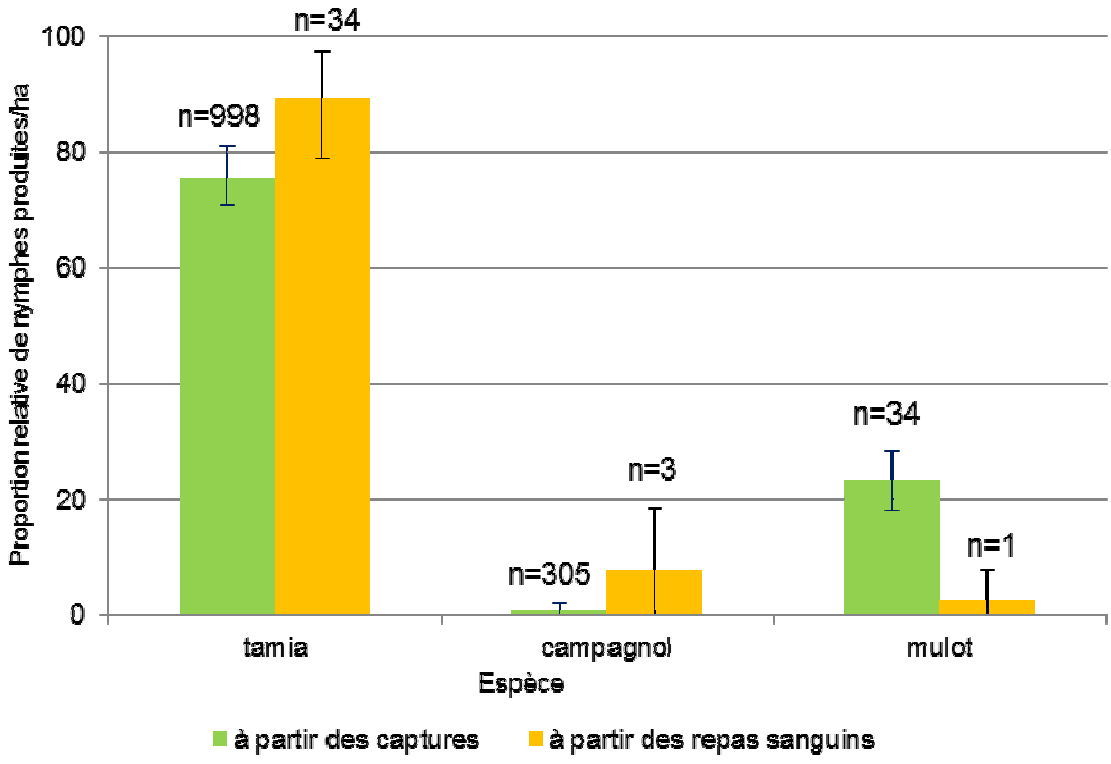


Figure 41 : Proportion de nymphes à l'affût produites par le tamia de Sibérie, le campagnol roussâtre et le mulot sylvestre (2007, Faisanderie).
Les proportions sont exprimées par rapport aux nymphes produites par les trois rongeurs avec la méthode d'analyse de repas sanguins et la méthode basée sur les données de captures. Les barres d'erreur correspondent aux intervalles de confiance à 95 %.

3.2.2. Proportion de nymphes à l'affût produ*ite par le tamia de Sibérie entre années à la Faisanderie*

Par le calcul basé sur les données de captures, le tamia produit 162 nymphes à l'affût en 2007 (28 % du nombre total de nymphes produites entre 2007 et 2010 [25;30]), 114 en 2008 (19 % [17;22]), 35 en 2009 (8 % [5;7]) et 279 en 2010 (47 % [44;50]) (Figure 42). Entre 2007 et 2010, 1 106 nymphes à l'affût ont été analysées. Parmi elle, nous avons identifié 293 repas dont 69 étaient associés au tamia de Sibérie (24%) : 34 en 2007 (49 % [38;61]), 21 en 2008 (30 % [20;42]), 11 en 2009 (13 % [9;25]) et 3 en 2010 (0,4 % [0;9]) (Figure 42). Les proportions relatives calculées pour le tamia sont supérieures entre 2007 et 2009 avec la méthode d'analyse de restes de repas sanguins (Figure 42). En 2010, calcul basé sur les données de captures donne des proportions supérieures à celles calculées avec l'analyse des repas sanguins.

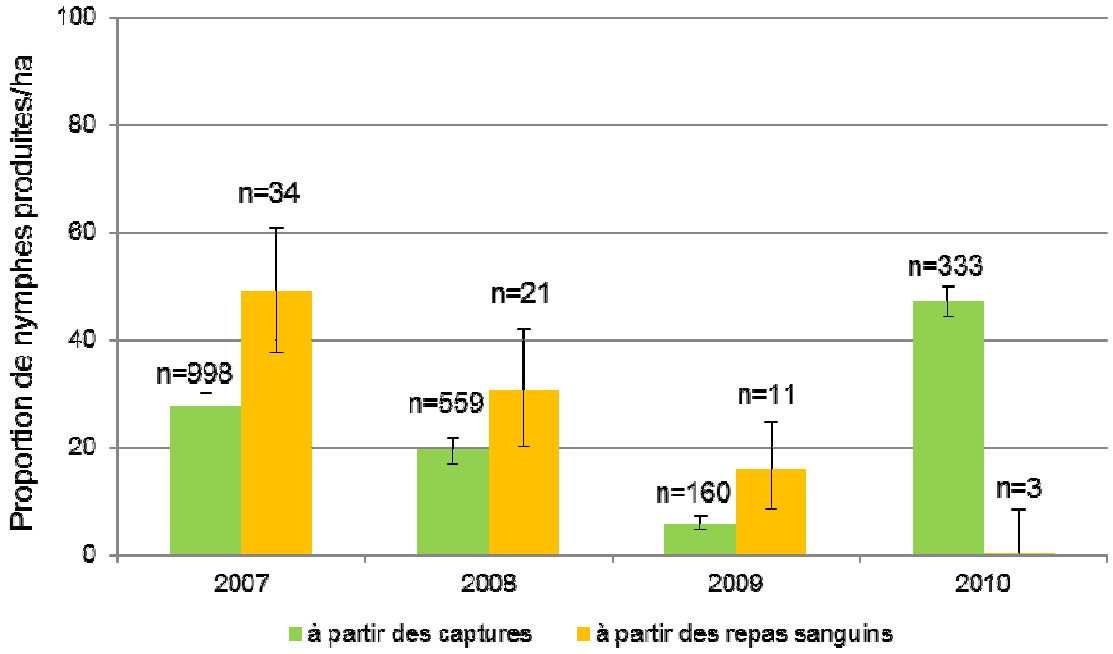


Figure 42 : Proportion de nymphes à l'affût produites par la population de tamias de Sibérie entre 2007 et 2010 (Faisanderie).
Les proportions sont basées sur la méthode d'analyse de repas sanguins et la méthode basée sur les captures. Les barres d'erreur correspondent aux intervalles de confiance à 95 %.

3.2.3. Proportion de nymphes à l'affût produites par les rongeurs entre les sites avec et sans tamia

Parmi les 350 nymphes à l'affût analysées entre avril et juin 2008 sur les deux sites avec et les deux sites sans tamia, 101 repas ont été identifiés. Parmi ces repas, 11 concernaient le tamia de Sibérie, 4 le campagnol roussâtre, et 5 le mulot sylvestre (Tableau 10). Deux tamias ont été identifiés dans la zone considérée comme sans tamia (2 sur 11).

Tableau 10 : Nombre de repas associés au tamia de Sibérie, au campagnol roussâtre et au mulot sylvestre pour les sites avec et sans tamias entre avril et juin 2008.
Les nombres entre crochets correspondent aux intervalles de confiance à 95 %.

Espèces	Sites avec tamias		Sites sans tamia	
	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4
Tamia de Sibérie	4 [2;5]	5 [2;7]	0	2 [2;2]
Campagnol roussâtre	1 [0;3]	1 [0;3]	2 [0;3]	0
Mulots sylvestre	0	2 [0;5]	1 [0;3]	2 [2;2]

3.2.4. Proportion de production de nymphes par le tamia de Sibérie par rapport aux autres hôtes de Sénart

80 repas ont été identifiés à la Faisanderie en 2007, 293 entre 2007 et 2010 et 101 sur les sites avec et sans tamias (Tableau 11)

Tableau 11 : Nombre de repas identifiés par la méthode d'analyse de repas sanguins et détail des vertébrés concernés à la Faisanderie en 2007, et entre 2007 et 2010 et sur les sites avec et sans tamias en 2008.
Pour le détail des espèces identifiées, se reporter à l'annexe 4.

	Faisanderie 2007	Faisanderie 2007-2010	Sites avec tamias	Sites sans tamia
Nombre de repas identifiés	80	293	45	56
Tamia de Sibérie	34	69	9	2
Chevreuil	14	67	12	17
Sanglier	12	34	3	8
Campagnol roussâtre	3	15	2	2
Mulot sylvestre	1	7	2	3
Hérisson	6	24	1	5
Renard	2	27	5	4
Oiseaux	0	14	9	3
Ecureuil roux	3	5	2	1
Lapin	0	13	0	5
Lièvre	3	3	0	2
Souris	1	4	0	1
Musaraignes	0	6	0	3
Rats	0	3	0	0
Lézard	1	2	0	0

Le tamia participe à la production de nymphes à l'affût de la même façon à la Faisanderie et sur les sites avec tamias à hauteur de 20 % (Tableau 12). Les grands mammifères représentent les hôtes principaux des tiques, avec un pourcentage maximal sur les sites sans tamia (45 %). Les mammifères de taille moyenne produisent de 13 à 29 % des nymphes et les petits mammifères de 13 à 18 %. Les oiseaux produisent peu de nymphes à la Faisanderie et sur les sites sans tamia (5 %) mais produisent autant de nymphes à l'affût que le tamia sur les sites avec tamias (20 %). Les lézards ne produisent presque pas de nymphes à l'affût.

Tableau 12 : Effectifs et pourcentages de nymphes s'étant nourries sur le tamia de Sibérie, les grands, moyens, petits mammifères, les oiseaux et les lézards (Faisanderie et sites avec et sans tamias).
Les effectifs et pourcentages sont basés sur l'analyse de repas sanguins. Les grands mammifères correspondent au chevreuil et au sanglier. Les mammifères de taille moyenne au renard, au lièvre, au lapin et au hérisson, les petits mammifères au campagnol roussâtre, au mulot sylvestre, à la souris, aux rats, aux musaraignes. Les oiseaux à toutes les espèces d'oiseaux et les reptiles aux lézards.

Groupes d'espèces	Faisanderie	Sites avec tamias	Sites sans tamias
Tamia de Sibérie	69 (24%)	9 (20%)	2 (4%)
Grands mammifères	101 (34%)	15 (33%)	25 (45%)
Moyens mammifères	67 (23%)	6 (13%)	16 (29%)
Petits mammifères	40 (14%)	6 (13%)	10 (18%)
Oiseaux	14 (5%)	9 (20%)	3 (5%)
Lézards	2 (1%)	0 (0%)	0 (0%)

4. MODELISATION DE LA CONTRIBUTION AU RISQUE ACAROLOGIQUE

Un modèle de transmission de maladies vectorisées par les tiques nécessite en premier lieu de caractériser la dynamique du vecteur (Randolph and Craine 1995). Pour caractériser la dynamique de la tique *I. ricinus* en Forêt de Sénart, nous avons développé un modèle de variation de la densité de nymphes à l'affût sur la végétation, à partir de données météorologiques, et estimé les paramètres du modèle par confrontation des prédictions aux valeurs observées des densités de nymphes à l'affût collectées sur la végétation.

4.1. Matériels et méthodes

Un modèle caractérisant la variation de la densité de nymphes à l'affût au sein du Parc de la Faisanderie (zones chênaie fermée et chênaie ouverte) entre 2006 et 2010 a été développé en fonction de données météorologiques (Le Gal et al. 1994). Il s'agit d'un modèle d'analyse de

processus de la proportion de nymphes dans un des trois compartiments : au sol inactives ou NSI (p_1), au sol actives ou NSA (p_2) et en quête d'hôte ou NQH (p_3) (Figure 43).

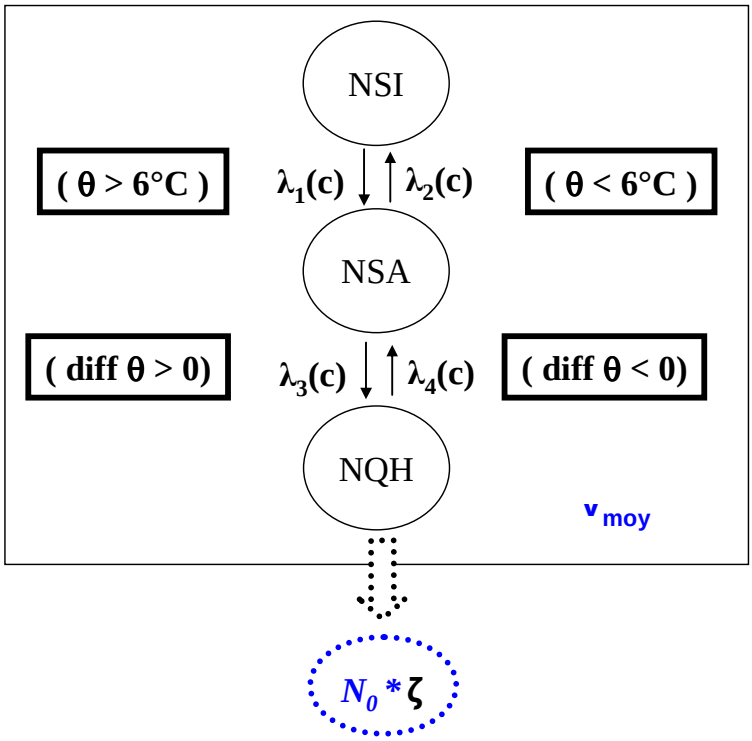


Figure 43 : Schéma du modèle de variation de la densité de nymphes à l'affût sur la végétation.

Le modèle correspond à un système fermé, pas d'entrée et de sortie du système, défini à l'échelle de la journée, et basé sur les deux paramètres suivants :

(i) la vitesse moyenne de passage d'un compartiment à l'autre, définies avec λ_1 entre NSI et NSA et λ_2 pour le passage inverse ; avec λ_3 entre NSA et NQH et λ_4 pour le passage inverse. Toutes ces vitesses sont identiques, alors que le passage est actif quand une condition "c" liée à la température est réalisée (Figure 43);

(ii) l'effectif initial de nymphes disponibles sur le milieu, N_0, auquel est associé un taux d'échantillonnage des nymphes sur la végétation par la méthode du drapeau (τ), considérée ici comme une constante égale à 0,20 (Schulze et al. 1997) (Figure 43).

La condition de déclenchement du passage entre NSI à NSA est fonction de la température (supérieure ou inférieure à 6°C, Figure 43). La condition de déclenchement du passage entre NSA à NQH est fonction du différentiel de température (dérivée de la courbe de température par rapport au temps positive ou négative) à partir d'une moyenne sur les 28 jours précédents (données Météo France) (Figure 43).

Pour tout t (unité de temps), nous avons une relation liant les proportions de nymphes dans les trois compartiments : $p_1(t) + p_2(t) + p_3(t) = 1$. Nous obtenons le système d'équations différentielles suivant :

$$\begin{cases} dp_1(t)/dt = & - \lambda_1(c).p_1(t) & + \lambda_2(c).p_2(t) \\ dp_2(t)/dt = & + \lambda_1(c).p_1(t) & - \lambda_2(c).p_2(t) & - \lambda_3(c).p_2(t) & + \lambda_4(c).p_3(t) \\ dp_3(t)/dt = & + \lambda_3(c).p_2(t) & - \lambda_4(c).p_3(t) \end{cases}$$

Pour estimer les deux paramètres du modèle, le système d'équations différentielles à temps continu est résolu par intégration numérique avec la méthode de Runge Kutta (disponible sous R avec la fonction "rk4" dans la librairie "odesolve"). Pour confronter notre modèle aux données observées en milieu naturel, nous disposons de données de nymphes à l'affût collectées sur la végétation une fois par mois (de mars à octobre) de 2005 à 2010 sur le Parc de la Faisanderie dans la zone chênaie fermée et dans la zone chênaie ouverte. De plus, nous calculons la corrélation entre les données observées et estimées à partir de la fonction "cor" sous R.

4.2. Résultats

Pour la zone fermée du Parc de la Faisanderie, nous avons obtenu les courbes issues de la résolution du modèle (Figure 44). Les densités de nymphes estimées varient au sein d'une année avec un pic en mai - juin puis une diminution progressive jusqu'à l'hiver. Le modèle obtenu est plutôt satisfaisant, alors qu'il ne possède que deux paramètres (vitesse de passage d'un compartiment à l'autre et effectif initial de nymphes à l'affût). En effet, la corrélation entre les données estimées et observées est de 57 %. Il est meilleur que si les estimations avaient été faites à partir de la moyenne générale ou encore de la moyenne par année des effectifs observés de nymphes à l'affût. La variabilité intra-année des densités de nymphes est identifiée à partir des facteurs météorologiques utilisés (températures) et nous n'observons pas de variabilité inter-année. Cependant, pour des effectifs observés élevés, le modèle a sous-estimé les effectifs (points rouges représentants les effectifs observés au-dessus de la courbe noire en trait plein, représentant le nombre estimé de nymphes échantillonnées).

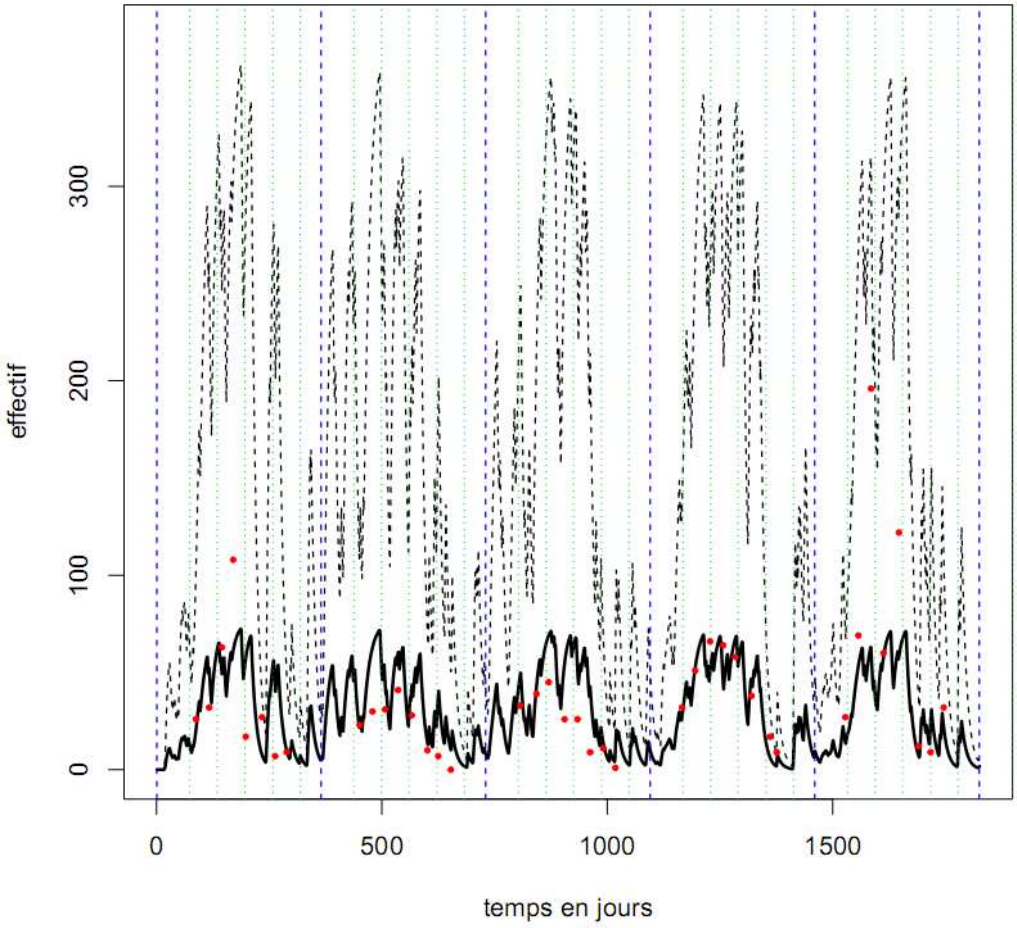


Figure 44 : Variation temporelle de la densité de nymphes à l'affût à la Faisanderie entre 2005 et 2010.
En pointillés, courbe de variation du nombre estimé de nymphes à l'affût total ; en noir, nombre estimé de nymphes échantillonnées par la méthode du drapeau ; en points rouges, effectifs observés de nymphes à l'affût à chaque collecte au drapeau, sur le Parc de la Faisanderie en zone chênaie fermée entre 2006 et 2010.

PARTIE V : DISCUSSION GENERALE

L'introduction d'une nouvelle espèce potentiellement réservoir dans un système de circulation d'un agent pathogène multi-hôtes peut conduire à l'amplification de la circulation de l'agent pathogène au sein des espèces natives (Kelly et al. 2009). L'objectif de cette étude était de caractériser la compétence et la capacité de réservoir, d'une espèce introduite, le tamia de Sibérie pour les agents pathogènes de la borréliose de Lyme, dans une forêt périurbaine d'Ile-de-France.

En ce qui concerne la compétence de réservoir du tamia de Sibérie pour *B. burgdorferi* sl, nous avons montré que le tamia héberge plus de tiques et est plus infecté par *B. burgdorferi* sl, et ceci par une plus grande diversité d'espèces (*B. afzelii*, *B. burgdorferi* ss et *B. garinii*), que le campagnol. Nos résultats suggèrent que le tamia est plus exposé et plus résistant aux tiques que le campagnol. De plus, le tamia semble plus exposé à l'infection par *B. burgdorferi* sl, plus résistant à *B. afzelii* et moins résistant à *B. burgdorferi* ss et *B. garinii* que le campagnol. Finalement, il semble que le tamia puisse conserver l'infection en *B. burgdorferi* sl durant l'hibernation et transmettre les bactéries aux tiques, mais ces résultats nécessitent d'être vérifiés.

Pour la contribution du tamia au risque acarologique, nos résultats suggèrent :

- que le tamia semble produire plus de nymphes infectées à l'affût que le campagnol et le mulot ;
- qu'il y a une variation temporelle de la contribution du tamia au risque acarologique ; variation interannuelle qui semble liée à la dynamique des populations de tamias et variation intra-annuelle plutôt liée à la disponibilité en tiques ;
- que la présence du tamia pourrait amplifier la contribution des réservoirs rongeurs natifs, le campagnol et le mulot, en augmentant principalement la prévalence d'infection chez ces hôtes.

Dans la discussion, nous ferons une analyse critique des principales méthodes biologiques utilisées. Puis, nous verrons pourquoi le tamia est plus infesté par les tiques et plus infecté par *B. burgdorferi* sl que le campagnol roussâtre, et nous identifierons les caractéristiques pouvant expliquer la forte contribution du tamia de Sibérie à la production de nymphes infectées à l'affût. Finalement, nous discuterons de l'amélioration du calcul de contribution d'une espèce réservoir dans un système de maintenance d'un agent pathogène multi-hôtes, et plus spécifiquement pour les agents pathogènes vectorisés par les tiques.

1. ANALYSE CRITIQUE DES PRINCIPALES METHODES BIOLOGIQUES UTILISEES

1.1. Sensibilité de la méthode de détection de B. burgdorferi *sl à partir de biopsie d'oreille*

Nous avons basé notre étude sur la détection du statut d'infection des rongeurs à partir de recherche directe de bactéries (par PCR) sur des biopsies d'oreilles. Cette méthode, largement utilisée (Slajchert et al. 1997, Paulauskas et al. 2007), est pratique à mettre en œuvre sur le terrain

par rapport aux xénodiagnoses (voir introduction de la Partie III). Elle présente les avantages de ne pas nécessiter le sacrifice de l'animal et de rechercher les *B. burgdorferi* sl dans les zones, où la transmission des *B. burgdorferi* sl a lieu le plus fréquemment, c'est-à-dire au site d'attache préférentiel des tiques (Nilsson and Lundqvist 1978). A l'inverse, nous n'avons pas de connaissances sur les conditions qui font que les *B. burgdorferi* sl détectés dans les organes internes (cœur, vessie, rein, cerveau) (Kurtenbach et al. 1998, Turk et al. 2008) et dans les muscles (Kybicova et al. 2008), puissent être effectivement transmises aux tiques.

L'utilisation des biopsies d'oreilles présentent toutefois des inconvénients. La spécificité (probabilité de ne pas détecter d'infection chez un individu indemne) de la détection par PCR dans les biopsies d'oreilles est *a priori* bonne, puisqu'elle va dépendre de la spécificité de la PCR (Postic et al. 1994). Le seul problème de la PCR est le fait que l'on détecte de l'ADN qui n'est pas forcément vivant, mais ce problème n'a pas été quantifié en ce qui concerne *B. burgdorferi* sl. Le problème majeur des biopsies d'oreille réside dans le fait que nous n'avons pas de "bonnes" connaissances de sa sensibilité (probabilité de détecter un individu infecté pouvant transmettre l'infection aux tiques) (Sinsky and Piesman 1989). Une étude, comparant la sensibilité de détection de *B. burgdorferi* sl dans la vessie et dans les biopsies d'oreilles, a montré que les biopsies d'oreilles étaient moins sensibles (Petney et al. 1996). Mais, comme nous l'avons souligné, cette comparaison est sans doute peu pertinente vis-à-vis du risque de transmission aux tiques. Humair et collaborateurs (1999) montrent que l'infection par *B. burgdorferi* sl était plus facilement détectable chez les campagnols roussâtres que chez les mulots sylvestres à partir de biopsies d'oreilles, alors que la prévalence d'infection était équivalente pour les deux espèces à partir des tiques issues de xénodiagnose. La plus faible détection des bactéries à partir de biopsies d'oreilles des mulots peut s'expliquer par le contrôle du nombre de bactéries par la réponse immunitaire de l'hôte (Kurtenbach et al. 1994, Dizij and Kurtenbach 1995) ou par le fait qu'elles sont localisées dans d'autres organes que la peau (Humair et al. 1999).

Plusieurs résultats de notre étude soulèvent la question de sensibilité de cette méthode, même si des explications alternatives sont possibles à chaque fois :

- les larves gorgées positives trouvées sur des tamias non-infectés. Comme nous l'avions déjà indiqué, les larves pourraient aussi avoir été infectées par co-repas ou par transmission transovarienne.
- le changement de statut d'infection des tamias, pour lesquels nous avons des histoires d'infection. Ces changements pourraient aussi indiquer que les tamias ne gardent pas l'infection longtemps.

Il serait donc important d'étudier la sensibilité des biopsies d'oreilles vis-à-vis de la méthode de référence, lourde à mettre en œuvre, la xénodiagnose. La sensibilité de la méthode devrait être testée pour chaque espèce d'hôte, afin de prendre en compte leurs réactions immunitaires spécifiques. Il s'agirait de vérifier les deux hypothèses principales susceptibles de conduire à la détection de faux-négatifs à partir de biopsies d'oreilles :

(i) la présence de *B. burgdorferi* sl très locale (Tsao 2009), pouvant conduire au prélèvement de biopsies d'oreilles sur des zones non-infectées, alors que l'infection est présente sur d'autres zones.

(ii) l'infection latente par les *B. burgdorferi* sl nécessitant certaines conditions pour migrer vers des sites de transmission aux tiques. Chez les oiseaux, le stress de la migration peut réactiver l'infection latente en *B. burgdorferi* sl (Gylfe et al. 2000). Il est possible que l'infection du tamia soit réactivée par exemple par les morsures de tiques ou par leur sortie d'hibernation, qui peut provoquer un stress comparable à celui de la migration des oiseaux. Cependant, nos résultats ne vont pas dans le sens de cette hypothèse, car les tamias infectés avant hibernation et non-infectés à la sortie d'hibernation portent des tiques, ce qui suggère que les morsures de tiques ou la sortie d'hibernation n'ont pas réactivé l'infection pour ces individus, mais plutôt qu'ils ont "perdu" l'infection durant l'hibernation.

1.2. Limites de la méthodologie d'analyse de restes de repas sanguins de nymphes

L'identification de l'origine des repas sanguins des tiques est d'une faible efficacité (31 %) mais donne des résultats cohérents, puisque les principaux hôtes identifiés (le chevreuil, les oiseaux, le renard, le lapin, le hérisson et le lézard) sont connus pour être des hôtes de larves (Gern and Humair 2002). Un doute subsiste toutefois sur la fiabilité de ces résultats en raison de la détection d'ADN de sangliers dans les nymphes collectées dans le parc de la Faisanderie (11 % globalement entre 2007 et 2010), alors qu'aucun sanglier n'était présent dans le parc ces années-là. Cependant, les nymphes détectées avec du sanglier pourraient s'être gorgées au stade larve sur le sanglier les années où celui-ci était présent (2006). L'autre hypothèse serait que la sonde sanglier manquerait de spécificité, c'est-à-dire, croiserait avec d'autres espèces, dont nous n'avons pas utilisé les sondes. Cette hypothèse est très peu probable compte tenu du fait que nous avons les sondes de la majorité des mammifères présents en Forêt de Sénart. Les croisements de sondes détectés (renard - sanglier) ont été pris en compte et nous n'avons pas identifié d'autres croisements possibles. De plus, deux tamias ont été identifiés sur les sites sans tamia, mais ce résultat est plausible du fait que quelques

tamias ont été observés sur ces sites, même si aucun n'a été capturé, lors des sessions de piégeages en 2008.

La détection des restes de repas sanguins chez les tiques est connue pour être techniquement difficile à cause de la digestion graduelle de l'ADN des vertébrés dans l'estomac des tiques et le délai entre le repas et l'analyse (Kent 2009). De plus, l'ADN des oiseaux pourrait être détecté dans des tiques collectées plus longtemps après leur repas que pour les mammifères, du fait que les hématies des oiseaux sont nucléées et contiennent plus de mitochondries. Il y aurait alors un biais de détection lié à l'espèce hôte. L'efficacité de notre analyse est du même ordre de grandeur que ce qui est trouvé dans d'autres études (Humair et al. 2007, Moran-Cadenas et al. 2007a). Cette faible efficacité peut être due à la faible quantité ou qualité de l'ADN restant, à la présence d'inhibiteurs de PCR ou à l'absence ou l'inefficacité de sondes. L'efficacité a été de plus diminuée par des contaminations, du fait que nous avons considéré ces résultats comme des repas non-détectés, même si nous avions pris des précautions pour limiter ce problème (Delime 2010). Cette méthode nécessite d'être améliorée pour augmenter la quantité d'ADN identifié, la spécificité et la précision des résultats. Des standards négatifs utilisés à chaque étape pourraient augmenter la validité des résultats. Finalement, l'utilisation de bandes séparées pour chaque sonde pendant la RLBH pourrait éviter toute contamination à ce stade.

L'efficacité de la méthode est différente suivant les années. En effet, en 2010, le pourcentage de détection des repas sanguins est proche de 20 %, alors qu'entre 2007 et 2009, il s'élève à 30 % chaque année. L'analyse, réalisée en 2010 à partir de nymphes conservées dans de l'alcool et non à partir de nymphes analysées directement au retour du terrain (2007-2009), serait moins efficace pour des nymphes conservées dans l'alcool.

Nous n'avons pas pris en compte les repas multiples dans le calcul de proportion des différents hôtes, qui correspondent à une proportion de repas comprise entre 2 et 9 % du total de repas identifiés, suivant les années et les sites d'étude. Ces proportions sont plus faibles que celles trouvées par Moran Cadenas et collaborateurs (2007a) pour *I. ricinus* (19 %) et par Allan et collaborateurs (2010) pour *Amblyomma americanum* (18 %). Deux hypothèses principales peuvent être avancées pour expliquer les multiples repas identifiés. D'une part, les tiques pourraient se "contaminer" avec de l'ADN d'hôtes de façon externe, par des contacts avec d'autres hôtes. D'autre part, des repas interrompus pourraient être plus fréquents qu'attendu, comme Moran Cadenas et collaborateurs le suggèrent (2007a) et comme Piesman et collaborateurs (1991) l'observent pour *I.*

scapularis. En effet, les tiques *Ixodes* peuvent se détacher de leur hôte, suite au toilettage ou à cause de résistance développées par l'hôte (Trager 1939, Brossard and Wikel 2004).

Si on compare la méthode de calcul de contribution à partir des captures de rongeurs avec celle basée sur l'analyse des repas sanguins, la méthode à partir des captures est plus précise (intervalles de confiance plus petits en lien avec des effectifs plus élevés), mais les proportions estimées de nymphes produites avec les deux méthodes sont similaires pour le tamia de Sibérie et le campagnol roussâtre en 2007, ainsi que pour le tamia de Sibérie entre 2007 et 2009. Par contre, les proportions estimées sont différentes pour le mulot sylvestre et pour le tamia de Sibérie en 2010. Nous n'avons pas d'explication pour ces résultats.

1.3. *Limites de l'évaluation de la transmission des bactéries du tamia de Sibérie aux tiques* I. ricinus

Pour étudier la transmission de *B. burgdorferi* sl des tamias aux tiques, nous avons analysé les infections et les repas sanguins des nymphes à l'affût et avons détecté les bactéries dans des larves gorgées. Les limites de l'analyse des restes de repas sanguins ont déjà été exposées dans le paragraphe précédent.

La méthode d'analyse de larves gorgées, bien qu'elle présente l'avantage de ne pas nécessiter de dispositifs expérimentaux, présente des inconvénients, car nous ne pouvons pas séparer si la transmission provient de l'hôte, des co-repas ou de la transmission transovarienne (Randolph et al. 1996, Richter et al. 2002, Nefedova et al. 2004, Bellet-Edimo et al. 2005). De plus, la détection des *B. burgdorferi* sl dans les larves gorgées ne permet pas de tester si l'infection est maintenue chez la tique jusqu'au stade de nymphe à l'affût. Il est possible que le fait de prélever un nombre différent de larves sur les tamias de Sibérie influence la probabilité de détection des *B. burgdorferi* sl des larves gorgées ; plus le nombre de larves est important, plus la probabilité de détection de l'infection au sein des larves gorgées augmente. Il serait intéressant d'utiliser une méthode plus contraignante mais plus directe pour évaluer la transmission des bactéries du tamia aux tiques. Il s'agit de prélever plusieurs individus en milieu naturel, les transporter au laboratoire, laisser les larves qu'ils portent se nourrir jusqu'à réplétion avant de relâcher les animaux, attendre la mue des larves récoltées en nymphes et les analyser pour *B. burgdorferi* sl (Humair et al. 1999). Cette méthode permettrait d'avoir une quantification directe de l'infectivité de l'espèce, mêlant à la fois les conditions naturelles et de laboratoire. La réalisation de ce type de protocole nécessite de pouvoir détenir des animaux sauvages et des tiques infectées au laboratoire et d'avoir les outils et

les locaux adaptés à la conservation des tiques. Par contre, ce protocole implique un stress des animaux, qui peut perturber leur retour en milieu naturel. Cependant, tout comme les approches que nous avons utilisées, cette méthode ne permet pas de supprimer la possibilité d'infection des tiques par co-repas et transmission transovarienne. Pour cela, des larves à l'affût pourraient être récoltées pour avoir une idée de la fréquence d'infection en *B. burgdorferi* sl des larves due à la transmission transovarienne. Dans la littérature, le pourcentage de larves infectées par transmission transovarienne est faible (Nefedova et al. 2004, Bellet-Edimo et al. 2005). Par contre, même si cette transmission est rare et n'est pas suffisante pour maintenir *B. burgdorferi* sl au sein des tiques (Schoeler and Lane 1993), elle est efficace quand elle a lieu (Bellet-Edimo et al. 2005). Une fois pris en compte la fréquence des transmissions transovariennes et en considérant que la biopsie d'oreille est efficace pour détecter le statut d'infection de l'animal (voir paragraphe précédent), les données concernant les tamias non-infectés avec des larves gorgées positives pourraient donner une idée de la fréquence de l'infection par co-repas. Comme pour la transmission transovarienne, il est admis que ce mode de transmission est rare pour *B. burgdorferi* sl (Randolph et al. 1996, Richter et al. 2002). Même si nous ne pouvons pas séparer les sources d'infection des larves gorgées, nos résultats ne contredisent pas le fait que le tamia peut transmettre les bactéries aux tiques.

Une partie des questions en suspens pourraient être résolue par des infections en milieu contrôlé associées à des xénodiagnoses : étude de la sensibilité de la méthode de détection par biopsies d'oreilles, quantification de l'infectivité du tamia de Sibérie. Nous avons mis en place cette expérimentation en septembre 2011 pour une durée d'un an, ce qui permet aussi d'étudier la durée d'infection des bactéries au sein du tamia. Etudier la compétence de réservoir d'une espèce en milieu naturel est complexe du fait de l'occurrence de facteurs confondants, que nous ne pouvons pas différencier. Les infections en milieu contrôlé sont nécessaires pour identifier certains mécanismes et processus. Cependant, les données en milieu naturel sont indispensables car, d'une part, certaines espèces d'oiseaux ou de musaraignes par exemple ne peuvent être maintenues au laboratoire et, d'autre part, le stress des conditions de vie naturelle (nourriture, prédation, climat) peut jouer un rôle sur les interactions hôtes-pathogènes.

2. LE TAMIA, UN HOTE PLUS INFESTE PAR LES TIQUES ET PLUS INFECTE PAR *B. BURGDORFERI* SL, QUE LE PRINCIPAL RESERVOIR RONGEUR NATIF

Le tamia de Sibérie héberge entre 27 et 69 fois plus de tiques, et 6 à 12 fois plus de nymphes que le campagnol au pic d'abondance des tiques. De plus, il est deux fois plus infecté en *B. burgdorferi* sl (35 %) que le campagnol roussâtre, ceci par trois des espèces de *B. burgdorferi* sl

connues pour infecter les rongeurs et qui ont aussi été détectées au sein des nymphes à l'affût (*B. burgdorferi* ss, *B. afzelii* et *B. garinii*) (Hanincovà et al. 2003), le campagnol roussâtre n'étant infecté que par *B. afzelii*.

Les fortes charges en tiques et la prévalence d'infection élevée des populations de tamias de la Forêt de Sénart sont comparables à celles des populations de tamia strié dans le Comté de Dutchess (New-York) (Schmidt et al. 1999). Dans ces populations, le tamia strié est lui aussi, plus infesté par les nymphes que le réservoir le plus important en Amérique du Nord, la souris à pattes blanches. Sa prévalence d'infection est moindre que celle de la souris à pattes blanches, mais il compte parmi les rongeurs les plus infectés après celle-ci (Mather et al. 1989, Slajchert et al. 1997). La prévalence d'infection observée chez le tamia de Sibérie en Forêt de Sénart est l'une des plus élevées trouvées chez les rongeurs (*M. glareolus, A. sylvaticus, A. flavicollis*) en Europe, qui sont en général infectés entre 9 % et 28 % (Kurtenbach et al. 1998, Humair et al. 1999, Paulauskas et al. 2007, Kybicova et al. 2008). Une prévalence d'infection plus élevée (90 %) a été trouvée chez la souris à pattes blanches au Massachussetts (Mather et al. 1989) et une prévalence similaire a seulement été observée chez les rongeurs aux Etats-Unis (26 et 30 %) (Slajchert et al. 1997, Salkeld et al. 2008), où une seule espèce de *B. burgdorferi* sl domine, *B. burgdorferi* ss. De plus, un tel niveau de diversité de *B. burgdorferi* sl a rarement été trouvé au sein d'une seule espèce hôte dans un seul lieu en Europe. Seuls Kybicova et collaborateurs (2008), en République tchèque, ont identifié les trois espèces de *B. burgdorferi* sl associées aux rongeurs, mais ces espèces ont été trouvées dans des muscles de campagnols roussâtres (n = 24).

La charge en tiques et la prévalence d'infection par *B. burgdorferi* sl du tamia de Sibérie, supérieures à celles du campagnol roussâtre, peuvent s'expliquer par le fait (i) que le tamia est plus exposé aux tiques et/ou aux bactéries et/ou (ii) qu'il est moins résistant aux tiques et/ou aux bactéries.

2.1. Pourquoi le tamia héberge-t-il plus de tiques que le campagnol ?

Le tamia semble plus exposé aux tiques que le campagnol. Deux facteurs principaux pourraient favoriser l'exposition du tamia aux tiques à l'affût par rapport au campagnol : sa taille et son comportement.

Le tamia a en effet une surface corporelle quatre à cinq fois plus grande que celle du campagnol, ce qui augmente la probabilité d'accrochage des tiques. Cependant, cette augmentation de probabilité

ne devrait pas directement être proportionnelle à la surface corporelle, du fait que les tiques s'attachent préférentiellement sur certains sites de la tête. La surface de la tête est moins de cinq fois plus grande chez le tamia que chez le campagnol, et pourtant le tamia est plus de 40 fois plus infesté par les tiques que le campagnol.

Le tamia de Sibérie a un domaine vital (1,3 ha) environ 15 fois plus grand que celui du campagnol roussâtre (0,08 ha) (Marmet 2008). Il parcourt donc de plus grandes distances pour chercher sa nourriture ou se reproduire, augmentant ainsi sa probabilité de rencontre avec les tiques par rapport au campagnol. De plus, étant un Sciuridé, le tamia utilise des niveaux de végétation plus élevés que ceux fréquentés par le campagnol, ce qui augmente la probabilité de rencontre avec les nymphes, en quête d'hôtes à des hauteurs plus élevées que les larves (Gigon 1985).

Pour séparer l'influence de la taille et du comportement exploratoire du tamia pour expliquer son exposition aux tiques, il est possible de s'affranchir de l'influence du facteur taille, en estimant la biomasse de chaque espèce hôte, du fait de la relation étroite entre la masse et la taille (Thompson 1942). La biomasse / ha correspond au produit de la densité / ha de l'espèce par la masse moyenne de l'espèce. Si les biomasses des deux espèces sont équivalentes, nous concluons que les fortes charges en tiques du tamia par rapport au campagnol seraient plutôt liées à son comportement exploratoire qu'à sa taille. Si la biomasse du tamia est supérieure à celle du campagnol, ses charges en tiques seraient plutôt liées à sa taille. Pisanu et collaborateurs (Annexe 1, 2010) suggèrent qu'au pic d'abondance des tiques, en juin 2007 à la Faisanderie, la biomasse moyenne du tamia de Sibérie était comparable à celle du campagnol roussâtre. Ceci suggère que les fortes charges en tiques du tamia s'expliquent plus par son comportement que par sa taille. Pour confirmer si cette hypothèse est valable à toutes les périodes de chaque année d'étude, il faudrait prendre en compte la variabilité temporelle de la biomasse.

Le tamia semble plus résistant aux tiques que le campagnol. La charge en tiques supérieure du tamia de Sibérie par rapport au campagnol roussâtre s'explique donc plus vraisemblablement par la plus forte exposition du tamia aux tiques que par sa faible résistance. Pour vérifier que le tamia est bien plus résistant aux tiques que le campagnol, il serait intéressant de modéliser plus finement l'exposition aux tiques, en considérant par exemple, la surface corporelle au lieu du poids ou les mouvements des animaux plutôt que le domaine vital. De plus, nous avons exprimé l'exposition aux tiques des hôtes par une relation linéaire de la disponibilité en tiques (densité), de la probabilité d'accroche des tiques (poids) sur les animaux et de la probabilité de rencontre avec les tiques

(domaine). Cependant, il est possible que la relation ne soit pas linéaire mais qu'on puisse arriver à une saturation du nombre de tique par individu.

La résistance supérieure du tamia de Sibérie pourrait venir du fait d'une plus forte immunité du tamia de Sibérie face à *I. ricinus* ou d'une mauvaise adaptation des tiques *I. ricinus* au tamia de Sibérie. Ce résultat reste assez étonnant étant donné que le tamia est beaucoup plus chargé en tiques que le campagnol. Il pourrait cependant s'expliquer par le fait que les tamias sont certes fortement infestés par les tiques mais pourraient supprimer les tiques, avant l'attache ou une fois attachées, comme ce qui est observé pour les opossums ou encore les écureuils aux Etats-Unis (Keesing et al. 2009). Pour vérifier cette hypothèse, il faudrait étudier le comportement de toilettage vis-à-vis des tiques et caractériser le succès de repas des tiques sur le tamia.

Les repas des tiques induisent un processus complexe de réponses immunitaires de l'hôte (synthétisées dans Wikel 1996). Ces interactions peuvent être vues comme un équilibre entre les défenses de l'hôte contre le parasite et la stratégie de contournement des tiques, permettant le repas et la transmission des agents pathogènes (Brossard and Wikel 2004). Outre les comportements de toilettage, dont nous venons de parler, trois raisons peuvent expliquer la résistance du tamia aux tiques. Premièrement, le tamia de Sibérie, étant présent depuis les années 1970 en Forêt de Sénart, le nombre de générations est potentiellement suffisant pour que la sélection de résistance contre les tiques *I. ricinus* ait eu lieu depuis l'introduction. Deuxièmement, la relative résistance du tamia de Sibérie pourrait être aussi une caractéristique propre aux individus, qui ont fondé la population introduite (effet fondateur, comme ce qu'on observe dans l'étude de Meagher et collaborateurs 1999), c'est-à-dire que, par hasard, les quelques individus qui ont fondé la population étaient particulièrement résistants aux tiques. Troisièmement, les tamias de Sibérie pourraient avoir une bonne résistance aux tiques du genre *Ixodes*. *I. ricinus* est absente de Corée (Goodman 2005) ; cependant, d'autres tiques du genre *Ixodes* existent en Corée, contre lesquelles le tamia de Sibérie a pu développer une résistance. Cependant, nous n'avons trouvé qu'une seule étude indiquant la présence de tiques *Ixodes* sur les tamias en Corée, avec 44 tiques *I. pomeranzevi* trouvé sur un tamia de Sibérie en Corée (Kim et al. 2009).

De la même "façon" qu'*I. ricinus* est un nouveau parasite pour les tamias de Sibérie, ces tamias représentent un nouvel hôte pour la tique, l'espèce native la plus proche phylogénétiquement étant l'écureuil roux. Pour se nourrir avec succès sur un nouvel hôte, la tique doit d'une part

contourner les défenses de l'hôte (immunitaires ou comportementales, comme le toilettage) et d'autre part être capable de digérer le sang. Les effets de l'immunité contre les tiques affectent la biologie des tiques et peut conduire au rejet de la tique (défaut de gorgement) avec peu ou pas de dommages, à la prolongation de la durée du repas (Schorderet and Brossard 1993), à une diminution des proportions de tiques qui se gorgent complètement (Girardin and Brossard 1990) ou à la mort de la tique sur l'hôte. De plus, la digestion (Brossard and Papatheodorou 1990), la mue ou la fécondité des tiques (Randolph and Nuttall 1994) peuvent être altérées. Kempf (2008) a démontré, dans certaines populations d'*I. ricinus*, l'existence de races spécialisées sur différents types d'hôtes (oiseaux, petit mammifères, *etc.*). Si les populations de tamias de Sibérie perdurent et se développent, cet hôte pourrait devenir une nouvelle source potentielle de "spécialisation" possible pour la tique.

Pour différencier la résistance du tamia de Sibérie aux tiques et l'adaptation des tiques *I. ricinus* à ce nouvel hôte, une étude pourrait consister à transplanter différentes espèces de tiques d'Europe, principalement *I. ricinus*, et de Corée sur le tamia de Sibérie. L'objectif serait de suivre la préférence et la performance de ces tiques en s'affranchissant de la barrière géographique potentielle entre espèces d'hôtes (Dietrich 2011).

2.2. Pourquoi le tamia est-il plus infecté par B. burgdorferi sl que le campagnol roussâtre?

Le tamia semble plus exposé à l'infection en *B. burgdorferi* sl que le campagnol. Le tamia de Sibérie a une charge en tiques en général, et en nymphes en particulier, plus élevée que celle du campagnol roussâtre. Etant donné que ce sont les nymphes qui infectent les hôtes réservoirs, les tamias sont, de ce fait, plus exposés à *B. burgdorferi* sl. En effet, les tamias sont infectés par *B. burgdorferi* sl à un taux presque deux fois supérieur à celui des nymphes à l'affût, leur source d'infection. Ce taux supérieur est lié au fait que les tamias hébergent en moyenne 3,5 nymphes, ce qui peut conduire à des infections simultanées et répétées, et au fait que les tamias ont une durée de vie de cinq à six ans, impliquant un nombre d'individus infectés dans la population important, si les tamias sont capables de maintenir l'infection. En comparaison, la prévalence d'infection chez le campagnol roussâtre, reflète celle des nymphes à l'affût. Ceci est en cohérence avec le fait que les campagnols ont en moyenne une nymphe et une durée de vie plus courte, de 2 à 3 ans.

Le tamia semble plus résistant à *B. afzelii* et moins résistant à *B. burgdorferi* ss et *B. garinii* que le campagnol. La probabilité d'infection inférieure ou supérieure du tamia de Sibérie aux

différentes espèces de *B. burgdorferi* sl par rapport au campagnol pourrait provenir de trois caractéristiques, qui seraient différentes suivant les espèces de *B. burgdorferi* sl (i) la résistance des tamias de Sibérie, une meilleure résistance signifierait que le tamia diminuerait la probabilité d'acquisition des bactéries ou éliminerait plus les bactéries, (ii) la tolérance, c'est-à-dire le fait que les individus, une fois infectés, survivraient mieux, ne seraient pas affectés par les bactéries ; une plus grande tolérance du tamia face aux bactéries impliquerait une prévalence plus élevée et, (iii) la durée d'infection du tamia, les tamias ayant une durée de vie de plusieurs années, une durée d'infection limitée, comme on le suppose (voir paragraphe ci-dessous), devrait diminuer la prévalence d'infection dans les populations par rapport à des infections chroniques.

Les variations de ces caractéristiques (résistance, tolérance et durée d'infection) pourraient soit être liées à l'immunité propre de l'espèce tamia de Sibérie, soit être liées à l'origine coréenne du tamia, c'est-à-dire au fait que les populations d'origine, qui ont co-évolué avec certaines souches de bactéries *B. burgdorferi* sl seraient moins résistantes aux souches de bactéries non présentes en Corée, soit liées à son caractère invasif en Forêt de Sénart, c'est-à-dire que le tamia aurait des caractéristiques liées à son invasion favorables au développement d'une résistance aux bactéries. Cette dernière hypothèse est peu probable du fait que les espèces introduites allouent en général plus de ressources à la survie et à la reproduction qu'à leur immunité (Prenter et al. 2004)

Sur les trois espèces de *B. burgdorferi* sl infectant le tamia, deux sont présentes en Corée : *B. afzelii* et *B. garinii* (Kurtenbach et al. 2006). Cependant, les études ne sont pas très précises à ce sujet puisqu'aucune ne relate l'infection du tamia de Sibérie en Corée. Les seules études disponibles chez le tamia de Sibérie viennent de Chine et relatent soit une infection par *B. burgdorferi* sl sans distinction d'espèce (un tamia infecté sur huit analysés, Huang et al. 2006) et soit une infection par *B. garinii* (un tamia infecté sur trois analysés, Chu et al. 2006). Si les deux espèces infectent bien le tamia de Sibérie en Corée, nous devrions nous attendre à ce que le tamia présente la même résistance ou tolérance face à ces deux espèces. Or nous avons vu que, par rapport au campagnol roussâtre, le tamia semble être plus résistant à *B. afzelii* mais moins résistant (plus tolérant) à *B. garinii*. Cette différence suggère soit que la co-évolution tamia de Sibérie – *B. burgdorferi* sl n'est pas le facteur prépondérant expliquant les prévalences observées, soit que la co-évolution entre le tamia de Sibérie et les différentes espèces de *B. burgdorferi* sl a pris des chemins différents, ou alors encore que les variants de *B. afzelii* ou de *B. garinii* sont différents entre la France et la Corée.

B. burgdorferi ss n'est pas présente en Corée (Kurtenbach et al. 2006). La plus faible résistance du tamia de Sibérie à cette espèce, par rapport au campagnol roussâtre pourrait être ainsi liée à sa "naïveté" vis-à-vis de cette espèce De plus, *B. burgdorferi* ss pourrait être capable d'infecter particulièrement bien les Sciuridés en Europe car une étude sur l'écureuil roux a montré qu'il est infecté principalement par cette espèce (analyse de 6 individus, Humair and Gern 1998). Une autre étude, actuellement en cours sur plus de 300 écureuils roux confirme ces résultats (données non publiées Chapuis, Vourc'h et collaborateurs). Sciuridé naïf pour *B. burgdorferi* ss, le tamia de Sibérie semble donc être un bon candidat pour héberger cette bactérie, et potentiellement amplifier le risque associé à cette espèce. Il serait particulièrement pertinent d'étudier les populations d'écureuils roux en sympatrie avec le tamia de Sibérie, car cela permettrait de comparer deux espèces plus proches phylogénétiquement, le tamia de Sibérie et l'écureuil roux (même famille), que ce que nous avons fait entre le tamia de Sibérie et le campagnol roussâtre (même ordre).

Afin d'identifier les hypothèses les plus probables parmi celles exposées ci-dessus, il serait intéressant d'une part d'aller étudier la prévalence d'infection sur des populations de tamias de Sibérie en Corée, et sur d'autres populations introduites, afin de vérifier la présence des différentes espèces de *B. burgdorferi* sl, et de comparer le niveau d'infection par ces bactéries. Par contre, il faudrait alors tenir compte du fait que les espèces de tiques présentes en Corée sont différentes d'*I. ricinus*, ce qui pourrait modifier les interactions entre le tamia et les espèces de *B. burgdorferi* sl de Corée. D'autre part, une étude de translocation de génotypes de *B. burgdorferi* sl d'Europe sur le tamia de Sibérie en Corée et inversement serait intéressante pour caractériser la résistance de cet hôte face à ces différentes espèces de bactéries, en fonction de son origine (Dietrich 2011).

La co-infection des tamias de Sibérie à Sénart par plusieurs espèces de *B. burgdorferi* sl est de l'ordre de 3%. Il existe assez peu de données relatant des co-infections chez les rongeurs. Les rongeurs, capables d'héberger plusieurs espèces de *B. burgdorferi* sl, en Europe sont co-infectés en proportion similaire à celle du tamia (1 mulot sylvestre co-infecté sur 42 (2 %) à partir de d'échantillons de muscles, Kybicova et al. 2008). Paulauskas et collaborateur (2007) ont détecté un écureuil roux hébergeant à la fois *B. afzelii* et *B. burgdorferi* ss. Comme le tamia peut héberger plusieurs espèces de *B. burgdorferi* sl, il pourrait y avoir des interactions directes entre les espèces de *B. burgdorferi* sl, telles que la compétition pour la ressource, ou des interactions indirectes via stimulation de la réponse immunitaire de l'hôte (Telfer et al. 2008). Il semble que les infections par

les différentes espèces de *B. burgdorferi* sl du tamia de Sibérie soient indépendantes. Cependant, il serait intéressant de tester cette hypothèse en prenant en compte la variabilité temporelle de l'infection et la variabilité entre différentes catégories d'hôtes (mâles/femelles, adultes/jeunes) qui pourraient expliquer le taux de co-infection observé (Vaumaurin 2011).

2.3. La maintenance de l'infection par le tamia de Sibérie est à vérifier

La maintenance des *B. burgdorferi* sl au sein du tamia apparaît plus complexe qu'au sein du campagnol roussâtre ou du mulot sylvestre, qui une fois infectés le restent toute leur vie (Humair et al. 1999). Les données de maintenance pendant l'hibernation au niveau individuel suggère que le tamia ne peut pas maintenir l'infection, alors que les données au niveau des populations de tamias suggèrent l'inverse. De plus, le nombre d'individus concerné, c'est-à-dire infectés avant hibernation et recapturés juste après, est faible (n = 10 pour les données individuelles). Nous n'avons donc pas de preuve définitive sur la maintenance de l'infection par les tamias de Sibérie.

L'infection dans le terrier est peu probable, car la majorité des jeunes à la sortie du terrier ne sont pas infectés en *B. burgdorferi* sl. Cependant, certains individus sont infectés ; ceci peut être dû à une infection contractée soit à l'extérieur avant la capture par des tiques infectées à l'affût, soit dans le terrier par des tiques infectées déposées par la mère. En effet, les tamias peuvent héberger des tiques *I. trianguliceps* et *I. acuminatus* (Vourc'h et al. 2007), deux espèces de tiques de terrier, qui pourraient leur transmettre *B. burgdorferi* sl (Doby et al. 1990, Pérez-Eid 2007).

Sous l'hypothèse de non-infection dans le terrier, les *B. burgdorferi* sl pourraient ne pas survivre chez les tamias de Sibérie pendant l'hibernation du fait de l'abaissement de leur température corporelle (jusqu'à 3°C, Anufriev et al. 2005). Cependant, des études en laboratoire ont montré que les spirochètes, famille de bactéries à laquelle appartiennent les *B. burgdorferi* sl, survivent et sont même capables de se multiplier en culture à des températures de 3 à 5°C (Boak et al. 1932, Nelson and Steinman 1948). De plus, *B. burgdorferi* sl est capable de survivre dans les tiques en diapause où la température peut être très basse. Il serait intéressant d'étudier la forme sous laquelle la bactérie survit et sa localisation pendant ces périodes hivernales au sein des réservoirs. Pour comprendre comment et où se maintient *B. burgdorferi* sl chez les tamias de Sibérie pendant l'hibernation, il serait nécessaire de capturer quelques individus directement dans les terriers et de rechercher les bactéries dans les différents organes et tissus.

Les résultats concernant le maintien de l'infection des tamias au cours de l'année, en période d'activité des tiques ne donnent pas de patron clair. En effet, les histoires d'infection à partir de multiples captures, qu'elle concerne des adultes, des J1 ou des J2, est complexe. Il y a aussi bien des individus qui sont toujours infectés par les mêmes espèces de *B. burgdorferi* sl, que des individus qui ne sont plus infectés ou d'autres dont l'espèce change. Les co-infections par différents agents pathogènes peuvent influencer la durée d'infection d'un agent pathogène au sein d'un hôte. Par exemple, Telfer et collaborateurs (2008) suggèrent que l'infection par le cowpox virus augmente la durée de persistance des *Bartonella taylori* chez les campagnols agrestes (*Microtus agrestis*). La durée d'infection des *B. burgdorferi* sl au sein du tamia pourrait aussi dépendre de l'infection par d'autres agents pathogènes et de leur possible interaction. La durée d'infection des *B. burgdorferi* sl par le tamia de Sibérie pourrait être étudiée en laboratoire, en supprimant les réinfections possibles par les tiques des tamias. Ceci permettrait de connaitre la durée d'infection en milieu contrôlé. Cependant, l'environnement et le stress en milieu naturel peuvent jouer un rôle important sur la survie d'un agent pathogène chez un hôte, ce qu'il faudra aussi prendre en compte, en confrontant les résultats de laboratoire et en milieu naturel.

3. LE TAMIA DE SIBERIE CONTRIBUE FORTEMENT AU RISQUE ACAROLOGIQUE

En s'appuyant sur les résultats de contribution au risque acarologique, nous allons discuter en quoi le tamia semble plus contribuer au risque acarologique que les rongeurs réservoirs natifs et en quoi il est un bon contributeur dans l'absolu, c'est-à-dire par rapport à l'ensemble des hôtes de la Forêt de Sénart. Puis nous discuterons comment la contribution du tamia de Sibérie varie dans le temps et suivant la classe d'âge des individus. Finalement, nous soulignerons les implications de la présence du tamia sur le risque acarologique pour l'homme.

3.1. Le tamia semble contribuer plus au risque acarologique que les rongeurs réservoirs natifs

Seulement trois études ont calculé la contribution relative de différentes espèces d'hôtes au risque acarologique (Mather et al. 1989, Randolph and Craine 1995, Humair et al. 1999). Les autres études présentent des résultats associés à l'infestation des hôtes ou à leur prévalence d'infection mais ne calculent pas la contribution des espèces étudiées. Nos résultats suggèrent que les populations de tamia de Sibérie participent plus à la production de nymphes infectées que celles du campagnol roussâtre et du mulot sylvestre, que ce soit à la Faisanderie en 2007 ou sur les sites avec tamias en 2008.

Nos calculs de contribution au risque acarologique du tamia de Sibérie étaient basés sur des valeurs d'infectivité du tamia strié (McLean et al. 1993). Cette valeur a été évaluée à partir d'une xénodiagnose de deux individus seulement et pour les souches de *B. burgdorferi* ss américaines. Il convient donc de caractériser l'infectivité du tamia de Sibérie pour les trois espèces de *B. burgdorferi* sl qu'il héberge, afin d'avoir une meilleure estimation de cette infectivité et de tester si l'infectivité varie suivant les espèces de bactéries.

La forte contribution du tamia de Sibérie au risque acarologique à la Faisanderie en 2007, toutes périodes confondues est principalement due à sa forte charge en tiques, comme ce qui est observé pour le mulot rayé (*Apodemus agrarius*) en Allemagne (Matuschka et al. 1992). En avril 2008, sur les sites avec tamias, il n'y a pas de paramètre prépondérant dans le calcul de contribution. Pour les petits rongeurs, la contribution est due principalement à leur densité. La contribution du tamia de Sibérie sur les sites avec tamia en 2008 est comparable à celle à la Faisanderie en période A. En effet, les captures de rongeurs sur ces sites ont été réalisées en avril, période de faible activité des tiques, ce qui conduit à une faible infestation des tamias sur ces sites à cette période.

D'après l'étude de Mather et collaborateurs (1989), la souris à pattes blanches produit 90 % toutes les tiques infectées dans le Massachusetts (USA), par rapport au tamia strié et au campagnol des prés ; il semble que ce cas extrême de contribution au risque soit lié à l'ensemble des paramètres de contribution associé à la souris sur les différents sites étudiés: ses fortes densités, ses prévalences d'infection en *B. burgdorferi* ss élevées, sa compétence de transmission des bactéries aux tiques et ses fortes charges en tiques.

Les autres études portant sur des Sciuridés, sur les espèces du genre *Sciurus* ou du genre *Tamias*, montrent que ces espèces semblent être des contributeurs importants au risque associé à la borréliose de Lyme en Amérique du Nord ou en Europe (Mannelli et al. 1993, Craine et al. 1995, Humair and Gern 1998, Lane et al. 2005, Foley and Nieto 2011). Les Sciuridés semblent être des réservoirs compétents de *B. burgdorferi* sl ; ils peuvent contribuer à la transmission des agents de la borréliose de Lyme, principalement *B. burgdorferi* ss, quand ils sont abondants (Foley and Nieto 2011), ils ont une forte prévalence d'infection (Lane et al. 2005) ou une forte charge en tiques (Mannelli et al. 1993, Craine et al. 1995, Humair and Gern 1998, Foley and Nieto 2011).

Le campagnol roussâtre et le mulot sylvestre participent au risque acarologique de manière équivalente. Ceci est due au fait qu'ils sont présents en densités similaires. En effet, les différences entre les deux espèces des autres paramètres intervenant dans le calcul de la contribution (charge en tiques supérieure chez les mulots sylvestres *versus* infectivité et prévalence supérieures chez les campagnols roussâtres) se compensent. Nous avons effectivement trouvé que les mulots sont plus infestés par les tiques et moins infectés par *B. burgdorferi* sl que les campagnols roussâtres. Ces résultats confirment ce qui était déjà connu pour ces deux espèces (Dizij and Kurtenbach 1995).

3.2. Le tamia est un bon producteur de nymphes dans l'absolu

L'étude de la contribution du tamia au risque de la maladie de Lyme par rapport aux autres vertébrés est basée sur l'analyse des restes de repas sanguin, du fait qu'il est très difficile d'étudier les paramètres entrant dans la contribution (densité, prévalence d'infection, charge en tiques) sur l'ensemble des vertébrés. Cependant, l'efficacité de cette méthode s'est révélée médiocre (environ 30 %). Les conclusions que nous en retirons sont donc à prendre avec précaution. D'après les données de repas sanguin, à la Faisanderie, le tamia est un des plus gros producteurs de nymphes à l'affût (22 %) avec les grands et les moyens mammifères (respectivement 18 et 33 %). Par rapport aux oiseaux, le tamia héberge plus de tiques en général que toutes les espèces d'oiseaux étudiées. Par contre, les tamias et les oiseaux sont des contributeurs de nymphes totales à l'affût équivalents sur les sites avec tamias. A la Faisanderie, les oiseaux contribuent peu à la production de nymphes, car ils sont peu abondants. Le tamia de Sibérie est donc un nouvel hôte important dans l'absolu pour le cycle de *B. burgdorferi* sl, ce qui peut conduire à un phénomène d'amplification ("spillback") sur les hôtes natifs, ceci pour les rongeurs avec *B. afzelii*, pour les écureuils roux avec *B. burgdorferi* ss et pour les oiseaux avec *B. garinii*, même si le tamia de Sibérie est moins infecté par cette espèce de bactérie que par les deux autres espèces.

Le tamia est un bon producteur de nymphes à l'affût en Forêt de Sénart dans l'absolu. Peu d'étude ont comparé les paramètres entrant dans le calcul de contribution pour différents types de vertébrés sur des mêmes sites d'étude. Certaines études, cependant, ont comparé les prévalences d'infection en *B. burgdorferi* sl et ont suggéré des implications sur la contribution des espèces étudiées, comme entre rongeurs et oiseaux et rongeurs et lézards (Kurtenbach et al. 1998, Richter and Matuschka 2006). Kurtenbach et collaborateurs (1998) montrent que 50 % des faisans (*Phasianus colchicus*) sont infectés alors que les rongeurs sont infectés à 19 %, impliquant que les

oiseaux pourraient être de plus gros contributeur que les rongeurs. Cependant, le cas du faisan est particulier car il s'agit d'un oiseau capable d'héberger beaucoup de tiques du fait de sa grande taille, contrairement à la plupart des passereaux présents dans les forêts d'Europe. De même, les lézards sont plus infectés et transmettent plus l'infection aux tiques (de l'ordre de 65 %) que les rongeurs (de l'ordre de 43 %) dans l'étude de Richter et collaborateurs (2006). Dans notre étude, peu de lézards ont été identifiés par la méthode de repas sanguins, ce qui laisse supposer qu'ils produisent peu de nymphes dans notre site d'étude.

3.3. Variation de la contribution au risque acarologique du tamia de Sibérie en fonction de l'âge et du temps

La contribution des populations d'hôtes réservoirs au risque acarologique est susceptible de varier en fonction des principales "sources de variation", modifiant les paramètres qui composent la contribution, à savoir : le temps, qui influence les densités de tamias et les charges en tiques (Randolph 2004) ; l'âge et le sexe des individus, qui influencent la charge et la prévalence d'infection (Coltman et al. 2001, Hughes and Randolph 2001, Boyer et al. 2010). Parmi ces sources de variation, nous avons pu en étudier deux, la variation liée à l'âge et celle liée au temps. Nous n'avons pas pu étudier l'effet du sexe en raison des trop faibles effectifs dans chaque classe d'individus (mâles adultes, femelles adultes, mâles J1…), dont nous disposions pour les estimations de densités. Les deux études ayant estimé des contributions d'espèces au risque acarologique, n'ont pas pris en compte l'âge ni le sexe ni le temps (Mather et al. 1989, Randolph and Craine 1995).

Les tamias adultes sont les plus gros producteurs de nymphes infectées, suivis par les jeunes de première cohorte (J1). Les jeunes de deuxième cohorte, nés en été, quant à eux, contribuent très peu au risque acarologique. En effet, ils sortent du terrier à une période où les densités de tiques sont relativement faibles. Ils n'hébergent donc pas assez de tiques pour pouvoir contribuer au risque. La plus forte contribution des adultes par rapport aux jeunes de première cohorte tient au fait que les adultes sont plus infestés par les tiques et ont une prévalence plus importante. Ceci est dû au fait que les jeunes sont moins exposés aux tiques, car ils parcourent de moins grandes distances (Marmet et al. 2009).

La variation de la contribution du tamia de Sibérie entre les années dépend principalement de la variation de densités de l'espèce. Lorsque les densités sont faibles, le facteur qui a le plus de poids dans la contribution est la charge en tiques, comme en 2009 et sur les sites avec tamias. La

faible densité observée en 2009 est liée à une importante mortalité hivernale des tamias au cours de l'hiver 2008-2009, en relation avec l'absence de ressources trophiques à l'automne (J.-L. Chapuis, com. pers.). En 2010, la population de tamia s'est reconstruite, ce qui s'est traduit par une augmentation de sa contribution au risque. Toutefois, cette augmentation est limitée du fait que la prévalence d'infection reste faible, probablement en relation avec le nombre relativement élevé de J1. La variation temporelle de la contribution du tamia de Sibérie au sein des années s'explique par la variation saisonnière des disponibilités en tiques sur le milieu (Randolph and Craine 1995) qui elle-même influence la charge en tiques (Annexe 1).

3.4. Le tamia de Sibérie ajoute-t-il une part du risque acarologique ou prend-il une part du risque des autres réservoirs ?

La contribution supérieure du tamia de Sibérie par rapport au campagnol roussâtre et au mulot sylvestre vis-à-vis du risque acarologique pourrait résulter du fait que le tamia produit des nymphes infectées soit en plus, soit à la place de celles des rongeurs natifs. La première hypothèse correspond à la notion d'amplification (« spillback ») que nous avons vu en introduction (Kelly et al. 2009), puisque ces « nouvelles » nymphes infectées sont susceptibles d'amplifier la circulation de *B. burgdorferi* sl chez les hôtes natifs. La deuxième hypothèse traduit le fait qu'il y ait une « compétition » pour les nymphes entre le tamia de Sibérie et les autres rongeurs, le tamia « nourrissant » des nymphes qui étaient « destinées » aux autres rongeurs. Deux éléments nous permettent d'appuyer la première hypothèse par rapport à la deuxième :

(i) Sur les sites sans tamia, la contribution du campagnol roussâtre et du mulot sylvestre est nulle alors qu'ils produisent des nymphes infectées sur les sites avec tamias. La présence du tamia semble donc augmenter la production de nymphes infectées des rongeurs natifs. Le même protocole que 2008 sur les sites avec et sans tamia avait été programmé en 2009, mais les effectifs extrêmement faibles en mulots et campagnols ne nous ont pas permis de capturer des individus de ces deux espèces, nous empêchant ainsi de vérifier ces résultats.

(ii) Les prévalences d'infection des nymphes à l'affût sont plus élevées dans les sites avec tamias que dans les sites sans tamia (CNR 2009). Toutefois, cela ne se traduit pas par une augmentation du risque acarologique (CNR 2009), du fait que les densités de nymphes sont plus faibles sur les sites avec tamias à cause de la plus faible abondance de chevreuils, par rapport aux sites sans tamia (données ONF non publiées).

Très peu d'exemples d'amplification suite à une introduction sont bien documentés. Le seul exemple à notre connaissance est celui présenté dans l'introduction de l'amplification au Nebraska du virus BCRV (Buggy Creek virus) chez les hirondelles à front blanc suite à l'introduction du moineau domestique (O'Brien et al. 2011). La présence du moineau a donc conduit au passage du virus de mode épidémique au mode endémique au sein des hirondelles natives. Comme pour le tamia, l'espèce introduite au Nebraska, s'est installée avec succès, a acquis un agent pathogène natif et a amplifié le risque pour les espèces hôtes natives.

Pour confirmer le mécanisme d'amplification de la circulation des *B. burgdorferi* sl chez les rongeurs natifs par la présence du tamia de Sibérie, il serait nécessaire d'augmenter le nombre de sites étudiés avec et sans tamias, afin de limiter l'impact des effets confondant tels que les variations d'abondance de chevreuils. Pour cela, d'autres populations que la forêt de Sénart pourraient être utilisées, notamment les populations situées en France, celle de Verneuil-sur-Seine (Yvelines) ou celle présente à proximité de Creil dans l'Oise seraient adaptées (présence d'ongulés, populations de tamias établies).

3.5. Quelles sont les implications pour le risque de transmission de la maladie de Lyme pour l'homme ?

Le risque pour l'homme de s'infecter par les agents de la maladie de Lyme dans un endroit donné dépend (i) du risque acarologique et (ii) de la présence et du comportement de l'homme dans les zones infestées, qui influencent la probabilité de contact avec les tiques infectées. La fréquentation des différentes zones à risque pourrait être étudiée par des enquêtes auprès des visiteurs des forêts et des suivis de trajectoire de ces visiteurs.

Nous avons vu précédemment que la présence du tamia agit surtout sur un des deux composants du risque acarologique : la prévalence d'infection chez les nymphes à l'affût (CNR 2009). L'autre composante du risque acarologique, la densité des nymphes, dépend surtout de l'abondance des chevreuils (Gern and Humair 2002). Le risque acarologique ne semble pas augmenter entre les sites avec et sans tamia de notre étude, du fait que les sites sans tamia ont des abondances de chevreuils plus fortes (données ONF non publiées). Par contre, il est intéressant de suivre les sites actuellement sans tamia. Notre prédiction est que le risque acarologique de ces sites devrait augmenter si les densités de tamias de Sibérie augmentent et si les densités de chevreuils restent au même niveau.

L'étude de la variation spatiale du risque acarologique sur l'ensemble de la forêt de Sénart (collecte de nymphes sur toutes les parcelles ONF de la forêt, environ 300 parcelles) réalisée au printemps 2011, permettra de confirmer l'hypothèse que la présence du tamia influence les prévalences d'infection dans les nymphes à l'affût et non la densité de tiques. Les zones à haut risque acarologique devraient donc se situer dans des zones à forte abondance de tamia et forte densité de nymphes, donc de chevreuils.

4. COMMENT AMELIORER LE CALCUL D'INDICE DE CONTRIBUTION ?

Les études (Mather et al. 1989, Randolph and Craine 1995, Humair et al. 1999) , calculant la contribution au risque acarologique de plusieurs espèces hôtes, présentent des indices, calculés à partir de paramètres moyens non estimés, c'est-à-dire sans prendre en compte leur variabilité et sans leur associer des intervalles de confiance. Pourtant, il existe une variabilité des paramètres de l'indice de contribution (charge en larves, densité d'hôtes, prévalence d'infection, infectivité). Dans notre étude, en décomposant les éléments de l'indice, nous estimons ces paramètres et prenons en compte leur variabilité. Nous avons également amélioré le calcul de l'indice en distinguant la prévalence d'infection et l'infectivité. Ceci permet d'identifier les paramètres importants dans le calcul de contribution pour pouvoir faire la distinction entre les caractères liés à l'espèce (infectivité) et ceux liés à la population étudiée (prévalence d'infection).

Parmi les variabilités des paramètres de l'indice, celle des charges en tiques (exprimées en effectifs) semble la plus importante dans le calcul de contribution. Cette variabilité dépend des espèces hôtes mais aussi des individus au sein des espèces. L'utilisation d'une distribution Binomiale Négative à la place d'une distribution de Poisson pour estimer les charges en tiques devrait améliorer la précision des estimations, mais pour cela il faudrait développer des modèles mixtes, intégrant la distribution Binomiale Négative. Si on veut améliorer la précision de l'indice de contribution, il faut améliorer la précision de la mesure des charges en tiques et donc comprendre ses facteurs de variation, c'est-à-dire les mécanismes d'interaction entre tiques et hôtes, qui peuvent se situer :

- au niveau de l'accrochage des tiques sur les hôtes, différent entre espèces hôtes, suivant l'activité des hôtes d'une espèce (par exemple, l'activité différente des adultes et des jeunes), suivant "l'attractivité" des différentes espèces ou des individus d'une même espèce (par exemple, entre mâles et femelles) ;

- au niveau de la réussite du gorgement des tiques sur les hôtes, différent entre espèces d'hôtes et entre individus d'une même espèce en lien avec l'immunité de l'hôte face aux tiques ou au toilettage.

Pour améliorer le calcul d'indice de contribution, nous proposons d'intégrer ces facteurs, une fois évalués en milieu naturel ou en laboratoire, dans le modèle mixte permettant d'estimer les charges en tiques des différentes espèces d'hôtes. Ce type de modèle n'est pas facile à mettre en œuvre et les modèles mixtes sont empiriques et non explicatifs. Cependant, cette approche permettrait d'identifier les facteurs principaux de variation des charges en tiques, paramètre avec la plus forte variabilité dans le calcul de contribution.

Dans la littérature, les modèles développés pour estimer la part des hôtes dans la contribution au risque acarologique sont principalement basés sur le calcul du R_0 (« taux de reproduction de base »), qui est défini comme le nombre moyen de cas secondaires causés par un individu infecté placé dans une population constituée d'individus susceptibles. Si $R_0 > 1$, une épidémie est possible si l'agent pathogène est introduit, et si $R_0 < 1$, l'agent pathogène ne se maintiendra pas. Deux principaux modèles ont été développés : celui d'Hartemink et collaborateurs (2008), et celui de Randolph et Craine (1995). Le modèle d'Hartemink et collaborateurs (2008) est basé sur la construction d'une matrice du nombre de reproduction, appelée matrice de nouvelle génération, pour approcher le calcul de R_0. Ce modèle est paramétré à partir de données issues de la littérature ou de dires d'experts, pour illustrer la méthode. Le modèle de Randolph et Craine (1995) compare l'importance relative des différentes espèces d'hôtes dans la composante du R_0 de la maladie. Ce modèle utilise le jeu de données de Craine et collaborateurs (1995) sur l'infestation en tiques de petits rongeurs, d'écureuils et d'oiseaux en Grande-Bretagne, ainsi que des paramètres issus de la littérature. Ces deux études présentent des valeurs moyennes de R_0 globale (pour Hartemink) ou par espèce d'hôte (pour Randolph) et ne prennent en compte aucune source de variabilité.

D'autres modèles existent permettant d'évaluer la proportion de nymphes à l'affût infectées produites par espèce d'hôtes, comme celui utilisé par Brisson et collaborateurs (2007). Ces auteurs utilisent le fait qu'ils peuvent assigner chaque génotype de *B. burgdorferi* ss à des espèces d'hôtes données. Ils peuvent ainsi estimer la proportion de tiques nourries par chaque espèce d'hôte du système étudié. En Europe, nous ne pouvons pas actuellement attribuer les génotypes de *B. burgdorferi* sl présentes au sein des nymphes à l'affût aux différentes espèces d'hôtes. Par contre, nous espérions pouvoir utiliser l'information de l'analyse des restes de repas sanguins pour

développer ce genre de modèle, ce qui n'a pas été possible du fait de la faible efficacité de la méthode.

Le modèle présenté dans notre étude est une première piste, qui permet d'évaluer à partir de données de densités de nymphes à l'affût collectées en milieu naturel, la variation temporelle des densités de nymphes en fonction de paramètres météorologiques. Ce modèle est plus réaliste que celui développé par Ogden et collaborateurs (2005), qui présente un modèle de simulation de l'effet de la température sur la survie et la variation temporelle des tiques, car nous utilisons des données de densités de tiques à l'affût pour estimer les paramètres du modèle et non des simulations. Ceci permet de confronter les estimations de la variation de la densité de nymphes à l'affût avec des données observées, afin de vérifier si le modèle s'ajuste bien aux données. Pour améliorer ce modèle, il faudrait (i) vérifier que le taux d'échantillonnage des nymphes à l'affût est bien constant quel que soit le site d'étude (Bord et al. in prep.), (ii) vérifier que les vitesses de passage des nymphes du stade inactif au stade actif au stade à l'affût soient identiques, ou encore (iii) tester le modèle sur d'autres sites pour vérifier que les estimations restent correctes, notamment sur des milieux avec de fortes densités en nymphes à l'affût, ce qui permettrait de tester la robustesse du modèle pour les forts effectifs.

Ce modèle est une étape pour aboutir à un modèle dynamique plus complet permettant d'intégrer à la fois la dynamique de population du vecteur et la dynamique des populations d'hôtes et la dynamique de circulation des *B. burgdorferi* sl au sein des hôtes, sachant que la compétence de réservoir est différente suivant les espèces hôtes.

Réaliser un tel modèle nécessite d'intégrer les différents facteurs de variation des paramètres intervenant dans la contribution des espèces au risque acarologique, comme ceux concernant la charge en tiques des hôtes, qui pourront être identifiés à partir des modèles mixtes décrits précédemment. Il est aussi nécessaire d'avoir des données plus détaillées sur les coefficients de transmission des bactéries des différentes espèces hôtes aux tiques, et l'effet sur ces coefficients de phénomènes tels qu'une exposition répétée aux tiques, une durée d'infection variable de l'hôte (Gern et al. 1994), et le développement de résistance aux tiques par certains hôtes. Les durées d'infection et d'infectivité doivent être testées pour le nombre grandissant d'hôtes connus pour être compétents pour *B. burgdorferi* sl.

De futures études sur les systèmes hôtes de la maladie de Lyme doivent intégrer différents éléments, qui ont pour l'instant été ignorés :

- la prise en compte d'un plus grand nombre d'espèces hôtes en plus des petits mammifères, comme les moyens et les grands mammifères (Randolph and Craine 1995). Nous avons approché la part de l'ensemble des hôtes de la Forêt de Sénart avec la méthode d'analyse de restes de repas sanguins. Cette méthode a un pourcentage de détection trop faible pour permettre de calculer une contribution à la production de nymphes infectées par espèce d'hôtes, même si elle nous permet de présenter des tendances. Pour faire mieux, il faudrait étudier en milieu naturel l'ensemble des hôtes du système étudié, en ce qui concerne leur densité, leur charges en tiques et leur compétence en tant que réservoirs de *B. burgdorferi* sl ainsi que leur prévalence d'infection ;
- la variabilité des charges en larves mais aussi de la densité, de la prévalence d'infection et de l'infectivité des espèces hôtes ;
- la part de la transmission transovarienne et des co-repas dans la production de nymphes infectées, en l'évaluant notamment au laboratoire ;
- l'importance de la durée de vie des espèces hôtes et des individus des populations étudiées, et donc la prise en compte du temps dans le calcul de contribution. Le fait de prendre en compte les recaptures pour le tamia permet déjà de contrôler en partie ce facteur, car un individu participe à la production de nymphes infectées potentiellement tout le temps qu'il est présent sur le site.

Tous ces éléments soulignent la complexité du système d'hôtes réservoirs de *B. burgdorferi* sl qui permettent la maintenance des bactéries. Pour arriver à intégrer toute cette complexité, il faudra réaliser des études associant l'épidémiologie, l'écologie, l'immunité des hôtes aussi bien en laboratoire qu'en milieu naturel, à différentes échelles (moléculaire, individu, populations et communautés) pour comprendre plus finement les mécanismes de circulation de *B. burgdorferi* sl.

PARTIE VI : CONCLUSION GENERALE

Le tamia de Sibérie semble être un réservoir compétent pour *B. burgdorferi* sl : il est infecté par les bactéries, il peut transmettre *B. burgdorferi* sl aux tiques *I. ricinus* mais la maintenance des bactéries au sein du tamia est incertaine. Une infection expérimentale est nécessaire pour quantifier son infectivité et vérifier la compétence de réservoir du tamia de Sibérie, notamment en ce qui concerne la maintenance de l'infection. Ces résultats devront être confrontés aux résultats collectés en milieu naturel, pour conclure définitivement sur la compétence de réservoir du tamia de Sibérie, en sachant qu'elle peut être différente en milieu naturel. Ils permettront également d'évaluer la sensibilité de la détection des *B. burgdorferi* sl dans les biopsies d'oreilles.

Le tamia est plus infesté par les tiques *I. ricinus* et plus infecté par *B. burgdorferi* sl que le campagnol roussâtre, réservoir natif de *B. burgdorferi* sl. De plus, il est capable d'héberger *B. afzelii, B. burgdorferi* ss et *B. garinii*, alors que le campagnol héberge uniquement *B. afzelii*. Il semble plus résistant à *B. afzelii* et moins résistant pour *B. burgdorferi* ss et *B. garinii* que le campagnol. Ce résultat nécessite d'être vérifié et confirmé en améliorant les estimations d'exposition et de résistance.

Compétent en tant que réservoir de *B. burgdorferi* sl, le tamia semble contribuer plus au risque acarologique que le campagnol roussâtre et le mulot sylvestre. Sa contribution varie entre années, en fonction principalement de sa dynamique de population et, au sein d'une année, en fonction de la disponibilité en tiques à l'affût. La présence du tamia pourrait augmenter la contribution des réservoirs natifs. Une meilleure contribution d'une population au risque vis-à-vis d'un agent pathogène est synonyme de "bonne" compétence de réservoir de l'espèce et de meilleure capacité de réservoir de la population, par rapport aux autres populations de réservoirs. Les caractéristiques liées à la meilleure contribution du tamia au risque acarologique sont principalement sa faible résistance à *B. burgdorferi* ss et *B. garinii*, ses fortes densités et sa forte exposition aux tiques. Il serait intéressant d'étudier si certains traits d'histoire de vie du tamia (taille de population, stratégie de reproduction, investissement dans l'immunité, …) favorisent cette meilleure capacité de réservoir. On pourrait alors étudier si ces traits d'histoire de vie se retrouvent chez d'autres espèces ou populations, qui contribuent fortement à la circulation d'agents pathogènes, comme le suggère la théorie du "good vessel" (Keesing et al. 2010, Roche and Guegan 2011).

Nous avons développé un modèle de variation temporelle de la densité de nymphes à l'affût, première étape pour aboutir à un modèle de circulation de *B. burgdorferi* sl, prenant en compte la dynamique des tiques vectrices, des populations d'hôtes et de réservoirs.

Il reste difficile de déterminer les impacts d'une espèce introduite lorsque les conditions initiales avant l'introduction ne sont pas connues. Pour bien comprendre les mécanismes d'ajout d'espèces, il faudrait pouvoir suivre la dynamique de circulation d'agents pathogènes avant et après l'introduction.

Aux vues de nos résultats de notre étude, il serait préférable d'interdire la vente des tamias de Sibérie dans les animaleries et les échanges par internet, afin de prévenir l'apparition de nouvelles populations en France et éviter le potentiel risque associé de la maladie de Lyme pour l'homme.

BIBLIOGRAPHIE

Allan, B. F., L. S. Goessling, G. A. Storch, and R. E. Thach. 2010. Blood Meal Analysis to Identify Reservoir Hosts for *Amblyomma americanum* Ticks. Emerging Infectious Diseases **16**:433-440.

Amore, G., L. Tomassone, E. Grego, C. Ragagli, L. Bertolotti, P. Nebbia, S. Rosati, and A. Mannelli. 2007. *Borrelia lusitaniae* in immature *Ixodes ricinus* (Acari : Ixodidae) feeding on common wall lizards in Tuscany, central Italy. Journal of Medical Entomology **44**:303-307.

Amori, G. and S. Gippoliti. 1995. Siberian chipmunk *Tamias sibiricus* in Italy. Mammalia **59**:288-289.

Anderson, R. M. and M. May. 1991. Infectious diseases of Humans : Dynamics and Control. Oxford Science Publications, Oxford.

Anufriev, A. I., T. N. Solomonova, A. A. Turpanov, and N. G. Solomonov. 2005. Ecological mechanisms of the formation of biological rhythms in hibernators of the family sciuridae in northeastern Siberia. Russian Journal of Ecology **36**:343-348.

Artois, M., C. Bunn, A. Caron, F. Leighton, and B. Vallat. 2006. La faune sauvage et les maladies émergentes. Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties **25**:897-912.

Ashford, R. W. 1997. What it takes to be a reservoir host. Belgian Journal of Zoology **127**:85-90.

Ashford, R. W. 2003. When is a reservoir not a reservoir ? Emerging Infectious Diseases **9**:1495-1496.

Atkinson, C. T. and D. A. LaPointe. 2009. Introduced Avian Diseases, Climate Change, and the Future of Hawaiian Honeycreepers. Journal of Avian Medicine and Surgery **23**:53-63.

Baranton, G., D. Postic, I. Saintgirons, P. Boerlin, J. C. Piffaretti, M. Assous, and P. A. D. Grimont. 1992. Delineation of *Borrelia burgdorferi* s.s., *Borrelia garinii* sp-nov and group VS461 associated with Lyme borreliosis. International Journal of Systematic Bacteriology **42**:378-383.

Begon, M. 2008. Effects of host diversity on disease dynamics. Pages 12-29 *in* R. S. Ostfeld, F. Keesing, and V. T. Eviner, editors. Infectious disease ecology: the effects of ecosystems on disease and of disease on ecosystems. Princeton University Press.

Bellet-Edimo, R., B. Betschart, and L. Gern. 2005. Frequency and efficiency of transovarial and subsequent transstadial transmissions of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks. Bulletin de la Societe Neuchâteloise des Sciences Naturelles **128**:117-125.

Bengis, R. H., F. A. Leighton, J. R. Fischer, M. Artois, T. Morner, and C. M. Tate. 2004. The role of wildlife in emerging and re-emerging zoonoses. Revue Scientifique Et Technique De L'Office International Des Epizooties **23**:497-511.

Bertolino, S., I. Currado, P. J. Mazzoglio, and G. Amori. 2000. Native and alien squirrels in Italy. Hystrix **11**:65-74.

Bertolino, S., P. J. Mazzoglio, M. Vaiana, and I. Currado. 2004. Activity budget and foraging behavior of introduced *Callosciurus finlaysonii* (Rodentia, Sciuridae) in Italy. Journal of Mammalogy **85**:254-259.

Beytout, J., J. C. George, J. Malaval, M. Garnier, M. Beytout, G. Baranton, E. Ferquel, and D. Postic. 2007. Lyme borreliosis incidence in two French departments: Correlation with infection of *Ixodes ricinus* ticks by *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Vector-Borne and Zoonotic Diseases **7**:507-517.

Boak, R. A., C. M. Carpenter, and S. L. Warren. 1932. Studies on the physiological effects of fever temperatures II. The effect of repeated short wave (30 meter) fevers on growth and fertility of rabbits. Journal of Experimental Medicine **56**:725-U724.

Bord, S., G. Vourc'h, P. Gasqui, and J. Chadoeuf. in prep. Which sampling strategy to control counting error and local dispersion of ticks by sampling drag method? .

Boyard, C., G. Vourc'h, and J. Barnouin. 2008. The relationships between *Ixodes ricinus* and small mammal species at the woodland-pasture interface. Experimental and Applied Acarology **44**:61-76.

Boyer, N., D. Réale, J. Marmet, B. Pisanu, and J.-L. Chapuis. 2010. Personality, space use and tick load in an introduced population of Siberian chipmunks *Tamias sibiricus*. Journal of Animal Ecology **79**:538-547.

Brisson, D., D. E. Dykhuizen, and R. S. Ostfeld. 2007. Conspicuous impacts of inconspicuous hosts on the Lyme disease epidemic. Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences **101**:1175-1180.

Brossard, M. and V. Papatheodorou. 1990. Immunity against female *Ixodes ricinus* - Effect on feeding and hemoglobin digestion. Annales De Parasitologie Humaine Et Comparee **65**:32-36.

Brossard, M. and S. K. Wikel. 2004. Tick immunobiology. Parasitology **129**:S161-S176.

Brunner, J., K. LoGiudice, and R. Ostfeld. 2008. Estimating reservoir competence of *Borrelia burgdorferi* hosts : prevalence and infectivity, sensitivity and specificity. Journal of Medical Entomology **45** 139-147.

Cadi, A. and P. Joly. 2004. Impact of the introduction of the red-eared slider (*Trachemys scripta elegans*) on survival rates of the European pond turtle (*Emys orbicularis*). Biodiversity and Conservation **13**:2511-2518.

Canica, M. M., F. Nato, L. Dumerle, J. C. Mazie, G. Baranton, and D. Postic. 1993. Monoclonal antibodies for identification of *Borrelia afzelii* sp-nov associated with late cutaneous manifestations of Lyme borreliosis. Scandinavian Journal of Infectious Diseases **25**:441-448.

Cao, Z. D., D. J. Zeng, X. L. Zheng, Q. Y. Wang, F. Y. Wang, J. F. Wang, and X. L. Wang. 2010. Spatio-temporal evolution of Beijing 2003 SARS epidemic. Science China-Earth Sciences **53**:1017-1028.

Capek, I., V. Vaillant, A. Mailles, and H. de Valk. 2006. Definition of priorities and actions in the area of non-alimentary zoonoses, 2000-2005. Bulletin Epidemiologique Hebdomadaire:196-199.

Casjens, S. R., C. M. Fraser-Liggett, E. F. Mongodin, W. G. Qiu, J. J. Dunn, B. J. Luft, and S. E. Schutzer. 2011. Whole Genome Sequence of an Unusual Borrelia burgdorferi Sensu Lato Isolate. Journal of Bacteriology **193**:1489-1490.

Chapuis, J.-L. 2005. Distribution in France of a naturalized pet, the Siberian Chipmunk (*Tamias sibiricus*). Revue d'Ecologie (Terre et Vie) **60**:239-253.

Chapuis, J.-L. 2008. Programme Tamia de Sibérie. Etat d'avancement des travaux 2008. unpublished data.

Chapuis, J.-L., P. Bousses, and G. Barnaud. 1994. Alien mammals, impact and management in the French sub-antarctic islands. Biological Conservation **67**:97-104.

Chapuis, J.-L., E. Obolenskaya, B. Pisanu, and A. Lissovsky. 2011. Datasheet on *Tamias sibiricus*. CABI, Wallingford, UK. http://www.cabi.org/isc.

Chomel, B. B., A. Belotto, and F. X. Meslin. 2007. Wildlife, exotic pets, and emerging zoonoses. Emerging Infectious Diseases **13**:6-11.

Chu, C., J. He, Q. Zhao, P. Zhang, X. Wu, B. Jiang, Y. Gao, H. Li, H. Huang, L. Zhan, and W. Cao. 2006. Molecular epidemiological studies on *Borrelia burgdorferi* in rodents collected in the forest area of several provinces and autonomous regions of China. Chinese Journal of Zoonoses [in Chinese] **22**:817-820.

Clark, K., A. Hendricks, and D. Burge. 2005. Molecular identification and analysis of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in lizards in the southeastern United States. Applied and Environmental Microbiology **71**:2616-2625.

Clavero, M. and E. Garcia-Berthou. 2005. Invasive species are a leading cause of animal extinctions. Trends in Ecology & Evolution **20**:110-110.

Cleaveland, S., Laurenson MK, Taylor LH. 2001. Diseases of humans and their domestic mammals: pathogen characteristics, host range and the risk of emergence Philosophical transactions of the royal society of London series biological sciences **356**:991-999.

CNR. 2009. Centre National de Référence des *Borrelia,* Institut Pasteur : Rapport annuel d'activité (http://www.pasteur.fr/ip/resource/filecenter/document/01s-000047-00c/ip-rap2009-cnr-borrelia-web.pdf).

Collinge, S. K. and C. Ray. 2006. Community epidemiology. Pages 1-5 Disease ecology: community structure and pathogen dynamics. Oxford University Press, Oxford UK.

Coltman, D. W., J. Pilkington, L. E. B. Kruuk, K. Wilson, and J. M. Pemberton. 2001. Positive genetic correlation between parasite resistance and body size in a free-living ungulate population. Evolution **55**:2116-2125.

Corner, L. A. L. 2006. The role of wild animal populations in the epidemiology of tuberculosis in domestic animals : How to assess the risk ? Veterinary Microbiology **112**:303-312.

Courchamp, F., J. L. Chapuis, and M. Pascal. 2003. Mammal invaders on islands: impact, control and control impact. Biological Reviews **78**:347-383.

Courtin, F., I. Sidibe, J. Rouamba, V. Jamonneau, A. Gouro, and P. Solano. 2009. Population growth and global warming : impacts on tsetse and trypanosomoses in West Africa. Parasite-Journal De La Societe Francaise De Parasitologie **16**:3-10.

Craine, N. G., S. E. Randolph, and P. A. Nuttall. 1995. Seasonal-Variation in the Role of Grey Squirrels as Hosts of *Ixodes ricinus*, the Tick Vector of the Lyme-Disease Spirochete, in a British Woodland. Folia Parasitologica **42**:73-80.

Daniels, P., K. Halpin, A. Hyatt, and D. Middleton. 2007. Infection and disease in reservoir and spillover hosts : determinants of pathogen emergence. Pages 113-131 Wildlife and emerging zoonotic diseases : the biology, circumstances and consequences of cross-species transmission.

David, C. 2005. Enquête au sein des parcs zoologiques européens sur la pathologie des singes ateles (*Ateles* sp.). Claude Bernard, Lyon.

Delahay, R. J., C. L. Cheeseman, P. J. Mallinson, J. M. Rogers, and G. C. Smith. 1998. Badgers and bovine tuberculosis: a review of studies in the ecology of a wildlife disease reservoir. BCVA:83-87.

Delime, P. 2010. Circulation de bactéries pathogènes transmises par les tiques dans un paysage de bois-pâture. Rapport de stage long, AgroParisTech.

Derdakova, M. and D. Lencakova. 2005. Association of genetic variability within the *Borrelia burgdorferi* sensu lato with the ecology, epidemiology of Lyme borreliosis in Europe. Annals of Agricultural and Environmental Medicine **12**:165-172.

Diamond, J. 2002. Evolution, consequences and future of plant and animal domestication. Nature **418**:700-707.

Dietrich, M. 2011. Diversité et adaptation des parasites : Formation de races d'hôtes chez la tique *Ixodes uriae*. PhD, Montpellier II.

Dizij, A. and K. Kurtenbach. 1995. *Clethrionomys glareolus* but not *Apodemus flavicollis* acquires resistance to *I. ricinus* L, the main european vector of *Borrelia burgdorferi*. Parasite Immunology **17**:177-183.

Doby, J. M., G. Bigaignon, H. Launay, C. Costil, O. Lorvellec, M. C. Lambert, and C. Rolland. 1990. Présence de *Borrelia burgdorferi*, agent de spirochetoses à tiques, chez *Ixodes trianguliceps* Birula, 1895 et *Ixodes acuminatus* Neumann, 1901 (Acariens Ixodidae) et chez *Ctenopthalmus baeticus arvernus* Jordan, 1931 et *Megabothris turbidus* Rothschild, 1909 (Insectes Siphonaptera), ectoparasites de micromammiferes des forêts dans l'Ouest de la France. Bulletin de la Societe Francaise de Parasitologie **8**:311-322.

Dozières, A. 2008. Conséquences de l'introduction du Tamia de Sibérie (*Tamias Sibiricus*) en forêt de Sénart (Essonne). Page 42. Rapport Master 2, Ecologie, Biodiversité, Evolution, Université Paris Sud-11/MNHN.

Dunn, R. R., T. J. Davies, N. C. Harris, and M. C. Gavin. 2010. Global drivers of human pathogen richness and prevalence. Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences **277**:2587-2595.

Efford, M. 2004. Density estimation in live-trapping studies. Oikos **106**:598-610.

Efford, M., D. Borchers, and E. Byrom. 2009. Density Estimation by Spatially Explicit Capture-Recapture : Likelihood-Based Methods. Pages 255-269 *in* T. e. al., editor. Modeling Demographic Processes in Marked Populations.

Efford, M. G., B. Warburton, M. C. Coleman, and R. J. Barker. 2005. A field test of two methods for density estimation. Wildlife Society Bulletin **33**:731-738.

Estrada-Peña, A. and J. M. Venzal. 2006. Changes in habitat suitability for the tick *Ixodes ricinus* (Acari : Ixodidae) in Europe (1900-1999). Ecohealth **3**:154-162.

Ewald, P. W. 1996. Guarding against the most dangerous emerging pathogens: Insights from evolutionary biology. Emerging Infectious Diseases **2**:245-258.

Field, H. E., J. S. Mackenzie, and P. Daszak. 2007. Henipavirus : emerging paramyxoviruses associated with fruit bats. Pages 133-159 Wildlife and emerging zoonotic diseases : the biology, circumstances and consequences of cross-species transmission.

Fleche, A., D. Postic, K. Girardet, O. Peter, and G. Baranton. 1997. Characterization of *Borrelia lusitaniae* sp. nov. by 16S ribosomal DNA sequence analysis. International Journal of Systematic Bacteriology **47**:921-925.

Foley, J. E. and N. C. Nieto. 2011. The ecology of tick-transmitted infections in the redwood chipmunk (*Tamias ochrogenys*) Ticks and Tick-borne Diseases **2**:88-93.

Fridley, J. D., J. J. Stachowicz, S. Naeem, D. F. Sax, E. W. Seabloom, M. D. Smith, T. J. Stohlgren, D. Tilman, and B. Von Holle. 2007. The invasion paradox: Reconciling pattern and process in species invasions. Ecology **88**:3-17.

Gatewood, A. G., K. A. Liebman, G. Vourc'h, J. Bunikis, S. A. Hamer, R. Cortinas, F. Melton, P. Cislo, U. Kitron, J. Tsao, A. G. Barbour, D. Fish, and M. A. Diuk-Wasser. 2009. Climate and Tick Seasonality Are Predictors of *Borrelia burgdorferi* Genotype Distribution. Applied and Environmental Microbiology **75**:2476-2483.

Gern, L., V. Douet, Z. López, O. Rais, and F. M. Cadenas. 2010. Diversity of *Borrelia* genospecies in *Ixodes ricinus* ticks in a Lyme borreliosis endemic area in Switzerland identified by using new probes for reverse line blotting Ticks and Tick-borne Diseases **1**:23-29.

Gern, L., A. Estrada-Peña, F. Frandsen, J. Gray, T. Jaenson, F. Jongejan, O. Kahl, E. Korenberg, R. Mehl, and P. Nuttal. 1998. European reservoir hosts of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Zentralblatt für Bakteriologie **287**:196-204.

Gern, L. and P.-F. Humair. 2002. Ecology of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Europe. Pages 149-174 Lyme borreliosis: Biology, epidemiology and control. CABI Publishing.

Gern, L. and O. Rais. 1996. Efficient transmission of *Borrelia burgdorferi* between cofeeding *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae). Journal of Medical Entomology **33**:189-192.

Gern, L., M. Siegenthaler, C. M. Hu, S. Leubagarcia, P. F. Humair, and J. Moret. 1994. *Borrelia burgdorferi* in Rodents (*Apodemus flavicollis* and *A. sylvaticus*) - Duration and Enhancement of Infectivity for *Ixodes ricinus* Ticks. European Journal of Epidemiology **10**:75-80.

Gessain, A., Manuguerra J.C. 2006. Les virus émergents.

Giery, S. T. and R. S. Ostfeld. 2007. The role of lizards in the ecology of Lyme disease in two endemic zones of the northeastern United States. Journal of Parasitology **93**:511-517.

Gigon, F. 1985. Biologie d'*Ixodes ricinus* L. sur le Plateau Suisse - Une contribution à l'écologie de ce vecteur. Faculté des Sciences de Neuchâtel, Neuchâtel.

Girardin, P. and M. Brossard. 1990. Rabbits infested with *Ixodes ricinus* adults - Effects of a treatment with cyclosporine A on the biology of ticks fed on naive and immune hosts. Annales De Parasitologie Humaine Et Comparee **65**:262-266.

Giraudoux, P., F. Raoul, D. Pleydell, and P. S. Craig. 2008. Multidisciplinary studies, systems approaches and parasite eco-epidemiology: Something old, something new. Parasite **15**:469-476.

Goodman, J. 2005. Tick-borne diseases of humans. Pages i-xiii, 1-401 *in* J. L. Goodman, D. T. Dennis, and D. E. Sonenshine, editors. Tick-borne diseases of humans. ASM Press;Washington, DC.

Gray, J. S., O. Kahl, C. Janetzki, and J. Stein. 1992. Studies on the ecology of Lyme disease in a Deer forest in county Galway, Ireland. Journal of Medical Entomology **29**:915-920.

Gurnell, J., L. A. Wauters, P. W. W. Lurz, and G. Tosi. 2004. Alien species and interspecific competition: effects of introduced eastern grey squirrels on red squirrel population dynamics. Journal of Animal Ecology **73**:26-35.

Gylfe, A., S. Bergstrom, J. Lunstrom, and B. Olsen. 2000. Reactivation of *Borrelia* infection in birds. Nature **403**:724-725.

Haensch, S., R. Bianucci, M. Signoli, M. Rajerison, M. Schultz, S. Kacki, M. Vermunt, D. A. Weston, D. Hurst, M. Achtman, E. Carniel, and B. Bramanti. 2010. Distinct Clones of *Yersinia pestis* Caused the Black Death. Plos Pathogens **6 (10)**.

Hanincovà, K., S. M. Schafer, S. Etti, H. S. Sewell, V. Taragel'ovà, D. Ziak, M. Labuda, and K. Kurtenbach. 2003. Association of *Borrelia afzelii* with rodents in Europe. Parasitology **126**:11-20.

Hartemink, N. A., S. E. Randolph, S. A. Davis, and J. A. P. Heesterbeek. 2008. The basic reproduction number for complex disease systems: Defining R-0 for tick-borne infections. American Naturalist **171**:743-754.

Haydon, D. T., S. Cleaveland, L. H. Taylor, and M. K. Laurenson. 2002. Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge. Emerging Infectious Diseases **8**:1468-1473.

Heinsohn, T. 2003. Animal translocation: Long-term human influences on the vertebrate zoogeography of Australasia (natural dispersal versus ethnophoresy). Australian Zoologist **32**:351-376.

Hide, G., A. Tait, I. Maudlin, and S. C. Welburn. 1996. The origins, dynamics and generation of *Trypanosoma brucei rhodesiense* epidemics in East Africa. Parasitology Today **12**:50-55.

Hu, C. M., P. F. Humair, R. Wallich, and L. Gern. 1997. *Apodemus* sp. rodents, reservoir hosts for *Borrelia afzelii* in an endemic area in Switzerland. Zentralblatt für Bakteriologie-International Journal of Medical Microbiology, Virology, Parasitology and Infectious diseases **285**:558-564

Huang, H.-n., Z. Ding, J. He, X.-m. Wu, B.-g. Jiang, Y. Gao, Q.-m. Zhao, Y.-f. Wang, and W.-c. Cao. 2006. Investigation on *Borrelia burgdorferi* infection in ticks and animal from a forest area of Jilin province. Chinese Journal of Zoonoses **22**:785-788.

Hubalek, Z., H. J., and J. Z. 2003. Longitudinal surveillance of the tick *Ixodes ricinus* for *Borreliae*. Medical and Veterinary Entomology **17**:46-51.

Huegli, D., C. M. Hu, P. F. Humair, B. Wilske, and L. Gern. 2002. Apodemus species mice are reservoir hosts of Borrelia garinii OspA serotype 4 in Switzerland. Journal of Clinical Microbiology **40**:4735-4737.

Hughes, V. L. and S. E. Randolph. 2001. Testosterone depresses innate and acquired resistance to ticks in natural rodent hosts: A force for aggregated distributions of parasites. Journal of Parasitology **87**:49-54.

Hulme, P. E., S. Bacher, M. Kenis, S. Klotz, I. Kuhn, D. Minchin, W. Nentwig, S. Olenin, V. Panov, J. Pergl, P. Pysek, A. Roques, D. Sol, W. Solarz, and M. Vila. 2008. Grasping at the routes of biological invasions: a framework for integrating pathways into policy. Journal of Applied Ecology **45**:403-414.

Humair, P. F., V. Douet, F. Morán Cadenas, L. M. Schouls, I. Van de Pol, and L. Gern. 2007. Molecular identification of bloodmeal source in *Ixodes ricinus* ticks using 12S rDNA as a genetic marker. Journal of Medical Entomology **44**:869-880.

Humair, P. F. and L. Gern. 1998. Relationship between *Borrelia burgdorferi* sensu lato species, red squirrels (*Sciurus vulgaris*) and *Ixodes ricinus* in enzootic areas in Switzerland. Acta Tropica **69**:213-227.

Humair, P. F., O. Peter, R. Wallich, and L. Gern. 1995. Strain variation of Lyme disease spirochetes isolated from *Ixodes ricinus* ticks and rodents collected in two endemic areas in Switzerland. Journal of Medical Entomology **32**:433-438.

Humair, P. F., D. Postic, R. Wallich, and G. L. 1998. An avian reservoir (*Turdus merula*) of the Lyme borreliosis spirochetes. Zentralblatt Fur Bakteriologie-International Journal of Medical Microbiology Virology Parasitology and Infectious Diseases **287**:521-538.

Humair, P. F., O. Rais, and L. Gern. 1999. Transmission of *Borrelia afzelii* from *Apodemus* mice and *Clethrionomys* voles to *Ixodes ricinus* ticks: differential transmission pattern and overwintering maintenance. Parasitology **118**:33-42.

Humair, P. F., N. Turrian, A. Aeschlimann, and L. Gern. 1993. *Borrelia burgdorferi* in a Focus of Lyme Borreliosis - Epizootiologic Contribution of Small Mammals. Folia Parasitologica **40**:65-70.

Jaenson, T. G. T. and L. Tälleklint. 1992. Incompetence of roe deer as reservoirs of the Lyme Borreliosis spirochete. Journal of Medical Entomology **29**:813-817.

Jammal, A., Allard R., Loslier G. 1988. Dictionnaire d'épidémiologie, Québec.

Johnson, N. L., S. Kotz, and A. W. Kemp. 1992. Univariate Discrete Distributions.

Johnson, R. C., G. P. Schmid, F. W. Hyde, A. G. Steigerwalt, and D. J. Brenner. 1984. *Borrelia burgdorferi* sp. nov.: etiologic agent of Lyme disease. International Journal of Systemic Bacteriology **34**:496-497.

Jones, K. E., N. G. Patel, M. A. Levy, A. Storeygard, D. Balk, J. L. Gittleman, and P. Daszak. 2008. Global trends in emerging infectious diseases. Nature **451**:990-993.

Jones, K. L., L. J. Glickstein, N. Damle, V. K. Sikand, G. McHugh, and A. C. Steere. 2006. *Borrelia burgdorferi* genetic markers and disseminated disease in patients with early Lyme disease. Journal of Clinical Microbiology **44**:4407-4413.

Jouanin, C. 1986. An unexpected addition to the French Mammal fauna - An asiatic squirrel thriving at Cap d'Antibes. Revue D'Ecologie-La Terre Et La Vie **41**:107-109.

Kahl, O., L. Gern, L. Eisen, and R. S. Lane. 2002. Ecological research on *Borrelia burgdorferi* sensu lato : terminology and some methodological pitfalls. Pages 29-46 Lyme borreliosis biology, epidemiology and control. CABI.

Keesing, F., L. K. Belden, P. Daszak, A. Dobson, C. D. Harvell, R. D. Holt, P. Hudson, A. Jolles, K. E. Jones, C. E. Mitchell, S. S. Myers, T. Bogich, and R. S. Ostfeld. 2010. Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases. Nature **468**:647-652.

Keesing, F., J. Brunner, S. Duerr, M. Killilea, K. LoGiudice, K. Schmidt, H. Vuong, and R. S. Ostfeld. 2009. Hosts as ecological traps for the vector of Lyme disease. Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences **276**:3911-3919.

Kelly, D. W., R. A. Paterson, C. R. Townsend, R. Poulin, and D. M. Tompkins. 2009. Parasite spillback: A neglected concept in invasion ecology? Ecology **90**:2047-2056.

Kempf, F. 2008. Structure génétique et évolution de la spécialisation chez deux ectoparasites hématophages, les tiques *Ixodes uriae* et *I. ricinus*, vecteurs de la borréliose de Lyme. PhD, Montpellier II.

Kent, R. J. 2009. Molecular methods for arthropod bloodmeal identification and applications to ecological and vector-borne disease studies. Molecular Ecology Resources **9**:4-18.

Kettle, D. S. 1995. Medical and Veterinary Entomology. CAB INTERNATIONAL, Wallingford.

Kim, H. C., J. H. Kim, Y. S. Jo, S. T. Chong, W. J. Sames, T. A. Klein, and R. G. Robbins. 2009. Records of *Ixodes pomeranzevi* Serdyukova, 1941 (Acari: Ixodidae) from small mammals in northern Gyeonggi and Gangwon Provinces, Republic of Korea. Systematic and Applied Acarology **14**:129-135.

Koh, H. S., J. X. Wang, B. K. Lee, B. G. Yang, S. W. Heo, K. H. Jang, and T. Y. Chun. 2009. A Phylogroup of the Siberian Chipmunk from Korea (*Tamias sibiricus barberi*) Revealed from the Mitochondrial DNA Cytochrome b Gene. Biochemical Genetics **47**:1-7.

Kozubikova, E., L. Filipova, P. Kozak, Z. Duris, M. P. Martin, J. Dieguez-Uribeondo, B. Oidtmann, and A. Petrusek. 2009. Prevalence of the Crayfish Plague Pathogen *Aphanomyces astaci* in Invasive American Crayfishes in the Czech Republic. Conservation Biology **23**:1204-1213.

Krasnov, B., M. Stanko, and S. Morand. 2007. Host community structure and infestation by ixodid ticks: repeatability, dilution effect and ecological specialization. Oecologia **154**:185-194.

Kurtenbach, K., A. Dizij, H. M. Seitz, G. Margos, S. E. Moter, M. D. Kramer, R. Wallich, U. E. Schaible, and M. M. Simon. 1994. Differential Immune-Responses to *Borrelia burgdorferi* in European Wild Rodent Species Influence Spirochete Transmission to *Ixodes ricinus* L (Acari, Ixodidae). Infection and Immunity **62**:5344-5352.

Kurtenbach, K., K. Hanincova, J. I. Tsao, G. Margos, D. Fish, and N. H. Ogden. 2006. Fundamental processes in the evolutionary ecology of Lyme borreliosis. Nature Reviews Microbiology **4**:660-669.

Kurtenbach, K., M. Peacey, S. G. T. Rijpkema, A. N. Hoodless, P. A. Nuttall, and S. E. Randolph. 1998. Differential transmission of the genospecies of *Borrelia burgdorferi* sensu lato by game birds and small rodents in England. Applied and Environmental Microbiology **64**:1169-1174.

Kybicova, K., Z. Kurzova, and D. Hulinska. 2008. Molecular and serological evidence of *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato in wild rodents in the Czech Republic. Vector Borne and Zoonotic Diseases **8**:645-652.

Lane, R. S., J. Mun, R. J. Eisen, and L. Eisen. 2005. Western gray squirrel (Rodentia: Sciuridae): A primary reservoir host of *Borrelia burgdorferi* in Californian oak woodlands? Journal of Medical Entomology **42**:388-396.

Laurenson, M. K., R. A. Norman, L. Gilbert, H. W. Reid, and P. J. Hudson. 2003. Identifying disease reservoirs in complex systems: mountain hares as reservoirs of ticks and louping-ill virus, pathogens of red grouse. Journal of Animal Ecology **72**:177-185.

Le Gal, F., P. Gasqui, and J.-P. Renard. 1994. Differential osmotic behavior of mammalian oocytes before and after maturation : a quantitative analysis using goat oocytes as a model. Cryobiology **31**:154-170.

Le Louarn, H. and J. P. Quéré. 2003. Les rongeurs de France. Faunistique et biologie. INRA editions.

Letrilliart, L., B. Ragon, T. Hanslik, and A. Flahault. 2005. Lyme disease in France: a primary care-based prospective study. Epidemiology and Infection **133**:935-942

Lloyd-Smith, J. O., D. George, K. M. Pepin, V. E. Pitzer, J. R. C. Pulliam, A. P. Dobson, P. J. Hudson, and B. T. Grenfell. 2009. Epidemic Dynamics at the Human-Animal Interface. Science **326**:1362-1367.

LoGiudice, K., R. S. Ostfeld, K. A. Schmidt, and F. Keesing. 2003. The ecology of infectious disease: Effects of host diversity and community composition on Lyme disease risk. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **100**:567-571

Lopez-Darias, M., J. M. Lobo, and P. Gouat. 2008. Predicting potential distributions of invasive species: the exotic Barbary ground squirrel in the Canarian archipelago and the west Mediterranean region. Biological Invasions **10**:1027-1040.

Lustrat, J.-M. 2007. Diagnostic écologique de la Vallée de la Seine.

Mack, R. N., D. Simberloff, W. M. Lonsdale, H. Evans, M. Clout, and F. A. Bazzaz. 2000. Biotic invasions: Causes, epidemiology, global consequences, and control. Ecological Applications **10**:689-710.

Mannelli, A., U. Kitron, C. J. Jones, and T. L. Slajchert. 1993. Role of the eastern chipmunk as a host for immature *Ixodes dammini* (Acari, Ixodidae) in northwestern Illinois. Journal of Medical Entomology **30**:87-93.

Marconi, R. T. and C. F. Garon. 1992. Development of polymerase chain reaction primer sets for diagnosis of Lyme disease and for species-specific identification of Lyme disease isolates by 16S rRNA signature nucleotide analysis. Journal of Clinical Microbiology **30**:2830-2834.

Maresca, B. 2000. La fréquentation des forêts en Ile-de-France - Caractéristiques des sorties et flux de visite des franciliens. CREDOC.

Margos, G., S. A. Vollmer, M. Cornet, M. Garnier, V. Fingerle, B. Wilske, A. Bormane, L. Vitorino, M. Collares-Pereira, M. Drancourt, and K. Kurtenbach. 2009. A New *Borrelia* Species Defined by Multilocus Sequence Analysis of Housekeeping Genes. Applied and Environmental Microbiology **75**:5410-5416.

Margos, G., S. A. Vollmer, N. H. Ogden, and D. Fish. 2011. Population genetics, taxonomy, phylogeny and evolution of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Infection, Genetics and Evolution **11**:1545-1563.

Markus, N. and L. Hall. 2004. Foraging behaviour of the black flying-fox (*Pteropus alecto*) in the urban landscape of Brisbane, Queensland. Wildlife Research **31**:345-355.

Marmet, J. 2008. Traits d'histoire de vie du Tamia de Sibérie *Tamias sibiricus*, espèce exotique naturalisée dans la forêt de Sénart (Essonne): démographie, biologie de la reproduction, occupation de l'espace et dispersion., Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris.

Marmet, J. and J.-L. Chapuis. 2008. Répartition de l'Ecureuil de Corée (*Tamias sibiricus*), animal de compagnie exotique introduit en France : résultats de l'enquête nationale de 2005. Pages 27-31 *in* Actes du 28ème Colloque de la SFEPM, 21-23 oct. 2005, Rambouillet (78), Coll. dossiers forestiers, n° 18.

Marmet, J., B. Pisanu, and J.-L. Chapuis. 2009. Home range, range overlap, and site fidelity of introduced Siberian chipmunks in a suburban French forest. European Journal of Wildlife Research **55**:497-504.

Marsot, M. 2008. Dynamique temporelle de l'infection des petits rongeurs par l'agent de la maladie de Lyme (*Borrelia burgdorferi* sl) en forêt de Sénart. Page 34. Master 2, Université Claude Bernard, Lyon 1.

Marsot, M., M. Sigaud, J.-L. Chapuis, E. Ferquel, M. Cornet, and G. Vourc'h. 2011. The introduced Siberian chipmunk (*Tamias sibiricus barberi*) harbours more diverse *Borrelia burgdorferi* sensu lato genospecies than the native bank vole. Applied and Environmental Microbiology **77**:5516-5721.

Mather, T. N., M. L. Wilson, S. I. Moore, J. M. Ribeiro, and A. Spielman 1989. Comparing the relative potential of rodents as reservoirs of the Lyme disease spirochete (*Borrelia burgdorferi*). American Journal of Epidemiology **130**:143-150.

Matuschka, F. R., P. Fisher, M. Heiler, D. Richter, and A. Spielman. 1992. Capacity of European Animals as Reservoir Hosts for the Lyme-Disease spirochete. Journal of Infectious Diseases **165**:479-483.

May, R. 1999. Population biology - Crash tests for real. Nature **398**:371-372.

McCullagh, P. and J. A. Nelder. 1989. Generalized Linear Models, London.

McDonald-Madden, E., E. S. G. Schreiber, D. M. Forsyth, D. Choquenot, and T. F. Clancy. 2005. Factors affecting grey-headed flying-fox (*Pteropus poliocephalus* : Pteropodidae) foraging in the Melbourne metropolitan area, Australia. Austral Ecology **30**:600-608.

McDonald, S. and D. Roberts. 1998. The economy-wide effects of the BSE crisis: A CGE analysis. Journal of Agricultural Economics **49**:458-471.

McLean, R., S. R. Ubico, and L. M. Cooksey. 1993. Experimental infection of the Eastern chipmunk (*Tamias striatus*) with the Lyme disease spirochete (*Borrelia burgdorferi*). Journal of Wildlife Diseases **29**:527-532.

McLeod, A. and E. Guerne-Bleich. 2006. Social, economic and policy issues in the long-term control of HPAI. Pages 171-176 *in* A. Schudel and M. Lombard, editors. OIE/FAO International Scientific Conference on Avian Influenza. Karger, Basel.

MEA. 2005. Millenium Ecosystem Assessment. Ecosystems and Human Well–Being: Biodiversity Synthesis. Island Press, Washigton DC.

Meagher, S. 1999. Genetic diversity and *Capillaria hepatica* (Nematoda) prevalence in Michigan deer mouse populations. Evolution **53**:1318-1324.

Mills, J. N. 2006. Biodiversity loss and emerging infectious disease: An example from the rodent-borne hemorrhagic fevers. Biodiversity (Ottawa) **7**:9-17.

Miyamoto, A., N. Tamura, K. Sugimura, and F. Yamada. 2004. Predicting habitat distribution of the alien Formosan squirrel using logistic regression model. Global Environmental Research **8**:13-21.

Molyneux, D. H., R. S. Ostfeld, A. Bernstein, and E. Chivian. 2008. Ecosystem disturbance, biodiversity loss, and human infectious disease. Pages 287-323 *in* E. Chivian, editor. Sustaining Life : How human health depends on biodiversity. Oxford University Press.

Moran-Cadenas, F., P. F. Humair, V. Douet, J. Moret, and L. Gern. 2007a. Identification of host bloodmeal source and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in field-collected *Ixodes ricinus* ticks in Chaumont (Switzerland). Journal of Medical Entomology **44**:1109-1117.

Moran-Cadenas, F., H. Schneider, E. Lommano, C. Burri, J. Moret, and L. Gern. 2007b. A comparison of two DNA extraction approaches in the detection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato from live *Ixodes ricinus* ticks by PCR and reverse line blotting. Vector-Borne and Zoonotic Diseases **7**:555-561.

Naranjo, V., C. Gortazar, J. Vincente, and J. de la Fuente. 2008. Evidence of the role of European wild boar as a reservoir of *Mycobacterium tuberculosis* complex. Veterinary Microbiology **127**:1-9.

Nefedova, V. V., E. I. Korenberg, N. B. Gorelova, and Y. V. Kovalevskii. 2004. Studies on the transovarial transmission of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in the taiga tick *Ixodes persulcatus*. Folia Parasitologica **51**:67-71.

Nelson, R. A. and H. G. Steinman. 1948. Factors affecting the survival of *Trepanoma pallidium* in vitro. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine **68**:588-588.

Nilsson, A. and L. Lundqvist. 1978. Host selection and movements of *Ixodes ricinus* (Acari) larvae on small mammals. Oikos **31**:313-322

O'Brien, V. A., A. T. Moore, G. R. Young, N. Komar, W. K. Reisen, and C. R. Brown. 2011. An enzootic vector-borne virus is amplified at epizootic levels by an invasive avian host. Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences **278**:239-246.

Obolenskaya, E. V., M. Y. Lee, N. E. Dokuchaev, T. Oshida, M. S. Lee, H. Lee, and A. A. Lissovsky. 2009. Diversity of Palaearctic chipmunks (*Tamias*, Sciuridae). Mammalia **73**:281-298.

Ogden, N. H., M. Bigras-Poulin, C. J. O'Callaghan, I. K. Barker, L. R. Lindsay, A. Maarouf, K. E. Smoyer-Tomic, D. Waltner-Toews, and D. Charron. 2005. A dynamic population model to investigate effects of climate on geographic range and seasonality of the tick *Ixodes scapularis*. International Journal for Parasitology **35**:375-389.

Olsen, B., T. G. T. Jaenson, and S. Bergstrom. 1995. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sl-infected ticks on migrating birds. Applied and Environmental Microbiology **61**:3082-3087.

Osnas, E. E. and A. P. Dobson. Evolution of virulence when transmission occurs before disease. Biology Letters **6**:505-508.

Ostfeld, R. S. and F. Keesing. 2000. Biodiversity and disease risk: The case of Lyme disease. Conservation Biology **14**:722-728.

Otis, D. L., K. P. Burnham, G. C. White, and D. R. Anderson. 1978. Statistical inference from capture data on closed animal populations. Wildlife Monographs:7-135.

Palmer, G. H., J. L. Koprowski, and T. Pernas. 2008. Tree squirrels as invasive species : conservation and management implications. Pages 273-282 *in* P. W. C. Witmer G.L., Fagerstone K.A. editors, editor. Managing vertebrate invasive species : proceedings of an international symposium, Fort Collins, Colorado.

Parmenter, R. R., T. L. Yates, D. R. Anderson, K. P. Burnham, J. L. Dunnum, A. B. Franklin, M. T. Friggens, B. C. Lubow, M. Miller, G. S. Olson, C. A. Parmenter, J. Pollard, E. Rexstad, T. M. Shenk, T. R. Stanley, and G. C. White. 2003. Small-mammal density estimation: A field comparison of grid-based vs. web-based density estimators. Ecological Monographs **73**:1-26.

Paulauskas, A., D. Arnbrasiene, J. Radzijevskaja, O. Rosef, and J. Turcinaviciene. 2007. Diversity in prevalence and genospecies of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks and rodents in Lithuania and Norway. Pages 180-187 *in* 9th International Jena Symposium on Tick-Borne Diseases. Elsevier Gmbh, Urban & Fischer Verlag, Jena, GERMANY.

Peavey, C., R. Lane, and T. Damrow. 2000. Vector competence of *Ixodes angustus* (Acari : Ixodidae) for *Borrelia burgdorferi* sensu stricto. Experimental and Applied Acarology **24**:77-84.

Pérez-Eid, C. 2007. Les tiques. Identification, biologie, importance médicale et vétérinaire. Lavoisier, Paris edition.

Perrings, C., M. Williamson, E. B. Barbier, D. Delfino, S. Dalmazzone, J. Shogren, P. Simmons, and A. Watkinson. 2002. Biological invasion risks and the public good: an economic perspective. Conservation Ecology **6**.

Petney, T. N., D. Hassler, M. Bruckner, and M. Maiwald. 1996. Comparison of urinary bladder and ear biopsy samples for determining prevalence of *Borrelia burgdorferi* in rodents in Central Europe. Journal of Clinical Microbiology **34**:1310-1312.

Piesman, J. 1991. Experimental Acquisition of the Lyme-Disease Spirochete, *Borrelia burgdorferi*, by Larval *Ixodes dammini* (Acari, Ixodidae) During Partial Blood Meals. Journal of Medical Entomology **28**:259-262.

Piesman, J. and L. Gern. 2004. Lyme borreliosis in Europe and North America. Parasitology **129**:S191-S220.

Pimentel, D., S. McNair, J. Janecka, J. Wightman, C. Simmonds, C. O'Connell, E. Wong, L. Russel, J. Zern, T. Aquino, and T. Tsomondo. 2001. Economic and environmental threats of alien plant, animal, and microbe invasions. Agriculture Ecosystems & Environment **84**:1-20.

Pinheiro, J. C. and D. M. Bates. 2000. Mixed Effects Models in S and S-Plus. Springer.

Pisanu, B., M. Marsot, J. Marmet, J.-L. Chapuis, D. Reale, and G. Vourc'h. 2010. Introduced Siberian chipmunks are more heavily infested by ixodid ticks than are native bank voles in a suburban forest in France. International Journal for Parasitology **40**:1277-1283.

Plowright, R. 2007. The ecology and epidemiology of Hendra virus in flying foxes. University of California.

Postic, D., M. V. Assous, P. A. Grimont, and G. Baranton. 1994. Diversity of *Borrelia burgdorferi* sensu lato evidenced by restriction fragment length polymorphism of rrf (5S)-rrl (23S) intergenic spacer amplicons. International Journal of Systematic Bacteriology **44**:743-752.

Postic, D., N. M. Ras, R. S. Lane, M. Hendson, and G. Baranton. 1998. Expanded diversity among Californian Borrelia isolates and description of Borrelia bissettii sp. nov. (formerly Borrelia group DN127). Journal of Clinical Microbiology **36**:3497-3504.

Prenter, J., C. MacNeil, J. T. A. Dick, and A. M. Dunn. 2004. Roles of parasites in animal invasions. Trends in Ecology and Evolution **19**:385-390.

Raberg, L., A. L. Graham, and A. F. Read. 2009. Decomposing health: tolerance and resistance to parasites in animals. Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences **364**:37-49.

Randolph, S. E. 2004. Tick ecology: processes and patterns behind the epidemiological risk posed by Ixodid ticks as vectors. Parasitology **129**:S37-S66.

Randolph, S. E. and N. G. Craine. 1995. General Framework for comparative quantitative studies on transmission of tick-borne diseases using Lyme Borreliosis in Europe as an example. Journal of Medical Entomology **32**:765-777.

Randolph, S. E., L. Gern, and P. A. Nuttall. 1996. Co-feeding ticks : Epidemiological significance for tick-borne pathogen transmission. Parasitology Today **12**:472-479.

Randolph, S. E., R. M. Green, A. N. Hoodless, and M. F. Peacey. 2002. An empirical quantitative framework for the seasonal population dynamics of the tick *Ixodes ricinus*. International Journal for Parasitology **32**:979-989.

Randolph, S. E. and P. A. Nuttall. 1994. Nearly right or precisely wrong - natural versus laboratory studies of vector-borne diseases. Parasitology Today **10**:458-462.

Reluga, T., R. Meza, D. Walton, and A. Galvani. 2007. Reservoir interactions and disease emergence. Theoretical Population Biology **72**:400-408.

Reperant, L. A. 2010. Applying the Theory of Island Biogeography to Emerging Pathogens: Toward Predicting the Sources of Future Emerging Zoonotic and Vector-Borne Diseases. Vector-Borne and Zoonotic Diseases **10**:105-110.

Richter, D., R. Allgöwer, and F.-R. Matuschka. 2002. Co-feeding transmission and its contribution to the perpetuation of the Lyme disease spirochete *Borrelia afzelii*. Emerging Infectious Diseases **8**:1421-1425.

Richter, D. and F. R. Matuschka. 2006. Perpetuation of the Lyme disease spirochete *Borrelia lusitaniae* by lizards. Applied and Environmental Microbiology **72**:4627-4632.

Richter, D., D. Postic, N. Sertour, I. Livey, F. R. Matuschka, and G. Baranton. 2006. Delineation of *Borrelia burgdorferi* sensu lato species by multilocus sequence analysis and confirmation of the delineation of *Borrelia spielmanii* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology **56**:873-881.

Richter, D., D. B. Schlee, R. Allgower, and M. FR. 2004. Relationships of a novel Lyme disease spirochete, Borrelia spielmani sp nov., with its hosts in central Europe. Applied and Environmental Microbiology **70**:6414-6419.

Riegel, J., R.-M. Lafontaine, J. Pasteels, and P. Devillers. 2000. Potential influence of the Siberian Chipmunk *Tamias sibiricus* (Laxmann) on the regression of the bird fauna of the Foret de Soignes, Brussels. Cahiers d'Ethologie **20**:45-62.

Roche, B. and J. F. Guegan. 2011. Ecosystem dynamics, biological diversity and emerging infectious diseases. Comptes Rendus Biologies **334**:385-392.

Sala, O. E., F. S. Chapin, J. J. Armesto, E. Berlow, J. Bloomfield, R. Dirzo, E. Huber-Sanwald, L. F. Huenneke, R. B. Jackson, A. Kinzig, R. Leemans, D. M. Lodge, H. A. Mooney, M. Oesterheld, N. L. Poff, M. T. Sykes, B. H. Walker, M. Walker, and D. H. Wall. 2000. Biodiversity - Global biodiversity scenarios for the year 2100. Science **287**:1770-1774.

Salkeld, D. J., S. Leonhard, Y. A. Girard, N. Hahn, J. Mun, K. A. Padgett, and R. S. Lane. 2008. Identifying the Reservoir Hosts of the Lyme Disease Spirochete *Borrelia burgdorferi* in California: The Role of the Western Gray Squirrel (*Sciurus griseus*). American Journal of Tropical Medicine and Hygiene **79**:535-540.

Saluzzo, J.-F., P. Vidal, and J.-P. Gonzalez. 2004. Les virus émergents. IRD Editions, Paris.

Sansone, R., S. Carobbi, G. Alloro, and P. Strigini. 1989. AIDS in Africa. Annali di igiene : medicina preventiva e di comunita **1**:1057-1066.

Schmidt, K. A., R. S. Ostfeld, and E. M. Schauber. 1999. Infestation of *Peromyscus leucopus* and *Tamias striatus* by *Ixodes scapularis* (Acari : Ixodidae) in relation to the abundance of hosts and parasites. Journal of Medical Entomology **36**:749-757.

Schmitt, M., N. Encrenaz, C. Chubilleau, and V. A. 2006. Epidemiological data on Lyme disease in Alsace, Limousin and Rhone-Alpes. Bulletin Epidemiologique Hebdomadaire 202-203.

Schoeler, G. B. and R. S. Lane. 1993. Efficiency of transovarial transmission of the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*, in the western blacklegged tick, *Ixodes pacificus* (Acari, Ixodidae). Journal of Medical Entomology **30**:80-86.

Schorderet, S. and M. Brossard. 1993. Changes in immunity to *Ixodes ricinus* by rabbits infested at different levels. Medical and Veterinary Entomology **7**:186-192.

Schulze, T. L., R. A. Jordan, and R. W. Hung. 1997. Biases associated with several sampling methods used to estimate abundance of *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* (Acari : Ixodidae). Journal of Medical Entomology **34**:615-623.

Sidorovich, V. E., A. G. Polozov, and A. Zalewski. 2010. Food niche variation of European and American mink during the American mink invasion in north-eastern Belarus. Biological Invasions **12**:2207-2217.

Sinsky, R. J. and J. Piesman. 1989. Ear punch biopsy method for detection and isolation of *Borrelia burgdorferi* from rodents. Journal of Clinical Microbiology **27**:1723-1727.

Skuballa, J., R. Oehme, K. Hartelt, T. Petney, T. Bucher, P. Kimmig, and H. Taraschewski. 2007. European hedgehogs as hosts for *Borrelia* spp., Germany. Emerging Infectious Diseases **13**:952-953.

Slajchert, T., U. D. Kitron, C. J. Jones, and A. Mannelli. 1997. Role of the eastern chipmunk (*Tamias striatus*) in the epizootiology of Lyme borreliosis in northwestern Illinois, USA. Journal of Wildlife Diseases **33**:40-46.

Smith, R., J. Takkinen, and E. team. 2006. Lyme borreliosis: Europe-wide coordinated surveillance and action needed? Euro Surveillance **11**:E060622.060621.

Stearns, S. C. and J. C. Koella. 1999. Evolution in Health and Disease. Oxford University Press, Oxford.

Svensson, L. 1992. Identification guide to European Passerines, Lars Svensson, Stockholm, Sweden.

Swaddle, J. P. and S. E. Calos. 2008. Increased Avian Diversity is associated with lower incidence of human West Nile infection: Observation of the dilution effect. PLoS ONE **3**:e2488

Sylla, M., J. F. Molez, J. P. Cornet, J. L. Camicas, and X. Pourrut. 2008. Climatic variation and distribution of Crimean Congo Hemorrhagic fever and Cowdriosis, tick-borne diseases in Senegal. Acarologia (Paris) **48**:155-161.

Tälleklint, L. and T. G. T. Jaenson. 1994. Transmission of *Borrelia burgdorferi* sl from mammal reservoirs to the primary vector of Lyme Borreliosis, *Ixodes ricinus* (Acari; Ixodidae), in Sweden. Journal of Medical Entomology **31**:880-886.

Tälleklint, L. and T. G. T. Jaenson. 1995. Is the small mammal (*Clethrionomys glareolus*) or the tick vector (*Ixodes ricinus*) the primary overwintering reservoir for the Lyme Borreliosis spirochete in Sweden. Journal of Wildlife Diseases **31**:537-540.

Taragel'ovà, V., J. Koci, K. Hanincovà, K. Kurtenbach, M. Derdakova, N. H. Ogden, I. Literak, E. Kocianova, and M. Labuda. 2008. Blackbirds and song thrushes constitute a key reservoir of *Borrelia garinii*, the causative agent of Lyme Borreliosis in Central Europe. Applied and Environmental Microbiology **74**:1289-1293.

Taylor, L. H., S. M. Latham, and M. E. J. Woolhouse. 2001. Risk factors for human disease emergence. Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences **356**:983-989

Telfer, S., R. Birtles, M. Bennett, X. Lambin, S. Paterson, and M. Begon. 2008. Parasite interactions in natural populations: insights from longitudinal data. Parasitology **135**:767-781.

Telford, S. R., T. N. Mather, S. I. Moore, M. L. Wilson, and A. Spielman. 1988. Incompetence of deer as reservoirs of the Lyme disease spirochete. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene **39**:105-109.

Terekhova, D., R. Lyer, G. P. Wormser, and I. Schwartz. 2006. Comparative genome hybridization reveals substantial variation among clinical isolates of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto with different pathogenic properties. Journal of Bacteriology **188**:6124-6134.

Thomas, F., J. Guégan, and F. Renaud. 2007. Parasitisme, biodiversité et biologie de la conservation. Pages 229-256 *in* D. Boeck, editor. Ecologie et évolution des systèmes parasités.

Thompson, D. A. W. 1942. On growth and form. University Press, Cambridge, New York.

Timms, R. and A. F. Read. 1999. What makes a specialist special? Trends in Ecology & Evolution **14**:333-334.

Toma, B., Bénet JJ., Dufour B., Eloit M., Moutou F., Sanaa M. 1991. Glossaire d'épidémiologie animale. Editions du point vétérinaire edition. Collection Médecine vétérinaire.

Torchin, M., K. Lafferty, A. Dobson, V. McKenzie, and A. Kuris. 2003. Introduced species and their missing parasites. Nature **421**:628-630

Trager, W. 1939. Acquired immunity to ticks. Jour Parasitol **25**:57-81.

Tsao, J. I. 2009. Reviewing molecular adaptations of Lyme borreliosis spirochetes in the context of reproductive fitness in natural transmission cycles. Vet Res **40**:36.

Tumpey, T. M., C. F. Basler, P. V. Aguilar, H. Zeng, A. Solorzano, D. E. Swayne, N. J. Cox, J. M. Katz, J. K. Taubenberger, P. Palese, and A. Garcia-Sastre. 2005. Characterization of the reconstructed 1918 Spanish influenza pandemic virus. Science **310**:77-80.

Turk, N., Z. Milas, J. Margaletic, R. Turk, L. Barbic, D. Konjevic, S. Peric, Z. Stritof, and V. Staresina. 2008. The role of fat dormouse (*Glis glis* L.) as reservoir host for spirochete *Borrelia burgdorferi* sensu lato in the region of Gorski Kotar, Croatia European Journal of Wildlife Research **54**:117-121.

van Dam, A. P., H. Kuiper, K. Vos, A. Widjojokusumo, B. M. Dejongh, L. Spanjaard, A. C. P. Ramselaar, M. D. Kramer, and J. Dankert. 1993. Different genospecies of *Borrelia burgdorferi* are associated with distinct clinical manifestations of Lyme Borreliosis. Clinical Infectious Disease **17**:708-717.

Vassallo, M., B. Pichon, J. Cabaret, C. Figureau, and C. Pérez-Eid. 2000. Methodology for sampling questing nymphs of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae), the principal vector of Lyme disease in Europe. Journal of Medical Entomology **37**:335-339.

Vaumaurin, E. 2011. Etude de la coinfection par *Bartonella* spp et *Borrelia burgdorferi* sl chez le campagnol roussâtre (*Myodes glareolus*). Master 2, Université de Montpellier II.

Venables, W. N. and B. D. Ripley. 1996. Modern applied statistics with S-plus. Springer.

Vié, J.-C., C. Hilton-Taylor, and S. N. Stuart. 2009. Wildlife in a changing world : An analysis of the 2008 IUCN Red List of Threatened Species. IUCN, Gland, Suisse.

Vila, M., C. Basnou, P. Pysek, M. Josefsson, P. Genovesi, S. Gollasch, W. Nentwig, S. Olenin, A. Roques, D. Roy, and P. E. Hulme. 2010. How well do we understand the impacts of alien species on ecosystem services? a pan-European, cross-taxa assessment. Frontiers in Ecology and the Environment **8**:135-144.

Vittor, A. Y., R. H. Gilman, J. Tielsch, G. Glass, T. Shields, W. S. Lozano, V. Pinedo-Cancino, and J. A. Patz. 2006. The effect of deforestation on the human-biting rate of *Anopheles darlingi*, the primary vector of *Plasmodium falciparum* malaria in the Peruvian Amazon. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene **74**:3-11.

Vourc'h, G. 2010. Les maladies émergentes chez l'Animal.*in* Q. éditions, editor. Les maladies émergentes chez le végétal, l'animal et l'homme : enjeux scientifiques et sociétaux, stratégies de détection et d'analyse.

Vourc'h, G., J. Marmet, M. Chassagne, S. Bord, and J.-L. Chapuis. 2007. *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Siberian chipmunks (*Tamias sibiricus*) introduced in suburban forests in France. Vector-Borne and Zoonotic Diseases **7**:637-641.

Walpole, M., R. E. A. Almond, C. Besancon, S. H. M. Butchart, D. Campbell-Lendrum, G. M. Carr, B. Collen, L. Collette, N. C. Davidson, E. Dulloo, A. M. Fazel, J. N. Galloway, M. Gill, T. Goverse, M. Hockings, D. J. Leaman, D. H. W. Morgan, C. Revenga, C. J. Rickwood, F. Schutyser, S. Simons, A. J. Stattersfield, T. D. Tyrrell, J. C. Vie, and M. Zimsky. 2009. Tracking Progress Toward the 2010 Biodiversity Target and Beyond. Science **325**:1503-1504.

Wang, G., A. P. v. Dam, A. Fleche, D. Postic, O. Peter, G. Baranton, R. d. Boer, L. Spanjaard, and J. Dankert. 1997. Genetic and phenotypic analysis of *Borrelia valaisiana* sp. nov. (*Borrelia* genomic groups VS116 and M19). International Journal of Systematic Bacteriology **47**:926-932.

Webby, R. J., Webster R.G., Richt J.A. 2007. Influenza viruses in animal wildlife populations. Pages 67-83 Wildlife and emerging zoonotic diseases : the biology, circumstances and consequences of cross-species transmission.

Whitlock, M. C. 1996. The red queen beats the jack-of-all-trades: The limitations on the evolution of phenotypic plasticity and niche breadth. American Naturalist **148**:S65-S77.

Wikel, S. K. 1996. Host immunity to ticks. Annual Review of Entomology **41**:1-22.

Williamson, M. and A. Fitter. 1996. The varying success of invaders. Ecology **77**:1661-1666.

Wolfe, N. D., C. P. Dunavan, and J. Diamond. 2007. Origins of major human infectious diseases. Nature **447**:279-283.

Woolhouse, M., Taylor LH, Haydon DT. 2001. Population biology of multihost pathogens. Science **292**:1109-1112.

Woolhouse, M. E. J., C. Dye, J. F. Etard, T. Smith, J. D. Charlwood, G. P. Garnett, P. Hagan, J. L. K. Hii, P. D. Ndhlovu, R. J. Quinnell, C. H. Watts, S. K. Chandiwana, and R. M. Anderson. 1997. Heterogeneities in the transmission of infectious agents: Implications for the design of control programs. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **94**:338-342.

ANNEXES

Annexe 1: Pisanu B., Marsot M., Marmet J., Chapuis J.-L., Réale D. et Vourc'h G.: "*Introduced Siberian chipmunks are more heavily infested by ixodid ticks than are native bank voles in a suburban forest in France.*" International Journal for Parasitology, 2010, vol. 40, p.1277-1283.

Annexe 2: Marsot M., Sigaud M., Chapuis J.-L., Ferquel E., Cornet M. et Vourc'h G.: "*Introduced Siberian chipmunks* (Tamias sibiricus barberi) *harbour more diverse* Borrelia burgdorferi *sensu lato genospecies than native bank voles (*Myodes glareolus*).*" Applied and Environmental Microbiology, 2011

Annexe 3: Marsot M., Henry P.-Y., Vourc'h G., Gasqui P., Ferquel E., Laignel J., Grysan M., Chapuis J.-L.: "*Traits that predispose forest birds to infestation by Ixodes ricinus, the tick vector of the Lyme's disease agent.",* en préparation.

Annexe 4: Sondes des mammifères, oiseaux et reptiles utilises pour la méthode de PCR-RLBH d'analyse de restes de repas sanguins.

Annexe 1

Pisanu B., Marsot M., Marmet J., Chapuis J.-L., Réale D. et Vourc'h G.: "*Introduced Siberian chipmunks are more heavily infested by ixodid ticks than are native bank voles in a suburban forest in France.*" International Journal for Parasitology, 2010, vol. 40, p.1277-1283.

International Journal for Parasitology 40 (2010) 1277–1283

Contents lists available at ScienceDirect

International Journal for Parasitology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijpara

Introduced Siberian chipmunks are more heavily infested by ixodid ticks than are native bank voles in a suburban forest in France

B. Pisanu [a], M. Marsot [a,b], J. Marmet [a], J.-L. Chapuis [a,*], D. Réale [c], G. Vourc'h [b]

[a] Muséum National d'Histoire Naturelle, Département Ecologie et gestion de la biodiversité, UMR 7204 CERSP, MNHN-CNRS-P6, 61 rue Buffon, CP 53, 75231 Paris cedex 05, France
[b] Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), UR 346 Epidémiologie animale, F-63122 Saint-Genès-Champanelle, France
[c] Département des Sciences Biologiques, Université du Québec à Montréal, Case postale 8888, succursale centre-ville, Montréal, Quebec H3C 3P8, Canada

ARTICLE INFO

Article history:
Received 22 January 2010
Received in revised form 18 March 2010
Accepted 19 March 2010

Keywords:
Hard ticks
Ixodes ricinus
Introduced Siberian chipmunk
Tamias (*Eutamias*) *sibiricus barberi*
Native bank voles
Myodes glareolus
Vector
Suburban forest

ABSTRACT

By serving as hosts for native vectors, introduced species can surpass native hosts in their role as major reservoirs of local pathogens. During a 4-year longitudinal study, we investigated factors that affected infestation by ixodid ticks on both introduced Siberian chipmunks *Tamias sibiricus barberi* and native bank voles *Myodes glareolus* in a suburban forest (Forêt de Sénart, Ile-de-France). Ticks were counted on adult bank voles and on adult and young chipmunks using regular monthly trapping sessions, and questing ticks were quantified by dragging. At the summer peak of questing *Ixodes ricinus* availability, the average tick load was 27–69 times greater on adult chipmunks than on adult voles, while average biomass per hectare of chipmunks and voles were similar. In adult chipmunks, individual effects significantly explained 31% and 24% of the total variance of tick larvae and nymph burdens, respectively. Male adult chipmunks harboured significantly more larvae and nymphs than adult females, and than juveniles born in spring and in summer. The higher tick loads, and more specifically the ratio of nymphs over larvae, observed in chipmunks may be caused by a higher predisposition – both in terms of susceptibility and exposure – to questing ticks. Tick burdens were also related to habitat and seasonal variation in age- and sex-related space use by both rodents. Introduced chipmunks may thus have an important role in the dynamics of local vector-borne pathogens compared with native reservoir hosts such as bank voles.
© 2010 Australian Society for Parasitology Inc. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Many of the recorded cases of emerging infectious diseases in wildlife result from the introduction of allochtonous host species that become invasive (Daszak et al., 2000; Dobson and Foufoupoulos, 2001; Tompkins and Poulin, 2006). Introduced species modify the composition of a host community and create new relationships between hosts and parasites (Krakau et al., 2006; Thieltges et al., 2009). They may acquire native parasites, especially from phylogenetically related native host species or when the parasite has a large spectrum of compatible host species (Barton, 1997; Azakawa, 2005; Tompkins and Poulin, 2006; Pisanu et al., 2009). Introduced species can then surpass the role of native hosts as major reservoirs (Craine et al., 1995; Daszak et al., 2000; Lv et al., 2009). Theoretical works have shown that the composition of a host community influences the dynamics of diseases, especially those transmitted by generalist vectors (Dobson, 2004; Begon, 2008; Logiudice et al., 2008). Vector dynamics depend on its survival and on host infestation, which, in turns, depend on differences in resistance levels of host species, vector feeding preference and host–vector contact (Dizij and Kurtenbach, 1995; Godsey et al., 1987; Shaw et al., 2003). In the field, very few studies have investigated the consequences of the introduction of a new host species on vector dynamics, whereas several studies have investigated different established host communities (LoGiudice et al., 2003; Krasnov et al., 2007; Swaddle and Calos, 2008; Welc-Falęciak et al., 2008). In addition, factors affecting the acquisition of parasites by introduced vertebrates have received little attention to date (Prenter et al., 2004; Tompkins and Poulin, 2006; Kelly et al., 2009).

Ixodid ticks are true generalists, which mean that they can exploit a large spectrum of different host species and are vectors for many microparasites (Pérez-Eid, 2007). Infestation by ixodids depends on factors such as the micro-geographical variability in the availability and activity of the developmental stages (Hubálek et al., 2003), tick population dynamics (Randolph et al., 2002), or on temporal availability of alternative hosts (Shaw et al., 2003; Ostfeld et al., 2006). Hard tick infestation also depends on the host's endocrine system (Hughes and Randolph, 2001) and related immunogenetic (Charbonnel et al., 2006) and behavioural status (Barnard and Behnke, 2006; Boyer et al., 2010). More specifically, individual variation in parasite loads can be attributed to sex, males being more heavily infected than females because of their distinct behaviours, altered immune functions or their larger body

* Corresponding author. Tel.: +33 1 40 79 32 63; fax: +33 1 40 79 80 11.
E-mail address: chapuis@mnhn.fr (J.-L. Chapuis).

0020-7519/$36.00 © 2010 Australian Society for Parasitology Inc. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.
doi:10.1016/j.ijpara.2010.03.012

size (Poulin, 1996; Moore and Wilson, 2002; Wilson et al., 2002; Harrison et al., 2010).

In this paper, we examine the determinants of infestation by ixodid species on the Korean form of the Siberian chipmunk, *Tamias* (= *Eutamias*) *sibiricus barberi* Johnson and Jones, 1955 (see Obolenskaya et al., 2009), introduced into France (Chapuis, 2005). Imported from Korea to be sold in pet shops since the 1960s, Siberian chipmunks have been released into the wild since the 1970s in at least 11 woody areas in France (Chapuis, 2005; Marmet and Chapuis, 2007). In the population of the Forêt de Sénart, chipmunks were found to be much more heavily infested by larvae and nymphs of *Ixodes ricinus* than were native muroid rodents living in sympatry, and suspected to be an important reservoir for Lyme borreliosis (Vourc'h et al., 2007). Moreover, we found that variation in ixodid burdens on individual chipmunks was related to both differences in habitat characteristics and personality (Boyer et al., 2010). Here we report how age and sex affect variation in tick burden based on monthly monitoring of the Siberian chipmunk population in the Forêt de Sénart over 4 years by capture-mark-recapture in two distinct habitats (Marmet, 2008; Marmet et al., 2009), together with an estimation of the dynamics of ticks that are questing for hosts on the vegetation. These results are compared with monthly data collected over 2 years on one of the most abundant muroid species, the bank vole, *Myodes* (= *Clethrionomys*) *glareolus*, that cohabits with chipmunks on our study site (Vourc'h et al., 2007; Pisanu et al., 2008, 2009). We especially focussed on the difference in nymph and larvae burdens between these two rodents according to adult host biomass per hectare at the period of both maximum availability of questing ticks and the presence of feeding stages. Additionally, using mixed models, a special effort was made to quantify variability in tick load on individual chipmunks (Patterson and Lello, 2003).

2. Materials and methods

2.1. Study site and populations

The study site was the "Parc de la Faisanderie" (14 ha; 02°29′36″E, 48°39′24′N), located in the Forêt de Sénart, a 3200 ha suburban forest 22 km southeast from Paris, France. This area is occupied by an oak-hornbeam forest separated into two kinds of habitat differing in their arboreal and herbaceous cover: (i) an open area in the northern part (6 ha), and (ii) a closed one in the southern part (6.5 ha); the remaining 1.5 ha part of the study site consisted of a lawn and stonewall buildings (Marmet, 2008; Marmet et al., 2009). As part of a broader study on the ecology of introduced Siberian chipmunks (Marmet, 2008), the tick study was based on the capture of individually marked chipmunks using 104 Sherman© traps baited with peanut butter, and sited using a Global Positioning System Leitz® (accuracy: ±1 m) distributed throughout the study site (distance between two neighboring traps = 38 ± 9 m, n = 169; Marmet et al., 2009). Trapping was carried out from March to October, between 2005 and 2008. Between 2005 and 2007 we performed two monthly trapping sessions of three and five consecutive days, respectively. A single, 5-day long trapping session was undertaken every month in 2008. During a trapping session, chipmunks were weighed, sexed, examined and immediately released. Each newly trapped chipmunk was marked using a s.c. transponder chip. Chipmunks were classified in three age groups depending of their body mass and the date of their first capture: (i) adults born the previous year or before; (ii) spring cohort juveniles (J1), emerging from their natal burrow between April and June; and (iii) summer cohort juveniles (J2), emerging between August and September. During this study, 47 individuals out of the 734 different chipmunks trapped could not be precisely aged, and were excluded from analyses.

Bank voles were regularly caught on our trapping grid. A sample up to 30 voles were euthanized monthly by cervical dislocation in 2007 and 2008, immediately put into a plastic bag, and frozen for later analysis in the laboratory. Animals were weighed to the nearest gram and sexed. Overall, 346 adults weighing at least 18 g, were selected for analyses. All trapping and handling procedures were conducted in accordance with the French legislation.

2.2. Densities of hosts

Adult chipmunk densities were calculated in June 2007 and 2008 by using the DENSITY 4.4 software which offers a direct estimation of density by fitting a simple spatial model to animal trapping histories by using simulation and inverse prediction (Efford, 2004; Efford et al., 2004: http://www.otago.ac.nz/density/). For bank voles, population size was estimated using the 'Removal' algorithm in CAPTURE software (Otis et al., 1978; http://www.mbr-pwrc.usgs.gov/software.html) from marked-recaptured individuals caught during three consecutive days in 100 baited INRA© live-traps equally spaced among 200 m long lines and deployed in the habitats (Vourc'h et al., 2007; Pisanu et al., 2008). These abundances were then divided by an effective trapping area (Parmenter et al., 2003) deduced by adding a boundary strip of 25 m wide on each side of the line (Pisanu et al., 2008), which is close to the estimation of the half mean maximal distances moved by these small rodents (Brown, 1956; Kikkawa, 1964; Randolph, 1973).

2.3. Feeding ticks

During examination of chipmunks, we counted tick larvae, nymphs and adults only on the head (Craine et al., 1995; Schmidt et al., 1999), using eye lenses (3× magnification). A sub-sample of adult ticks was removed and identified using the morphological key of Pérez-Eid (2007). Overall, 45 adult ticks were observed from 2870 trapping events on 734 chipmunks between 2005 and 2008. Twenty-six of them were removed and identified to species. All were identified as *Ixodes acuminatus*. Because there were so few adult ticks, this stage was not considered in this study. We focused on earlier life-stages of ixodids of which >95% have been identified as *I. ricinus* in a previous study in the Forêt de Sénart (Vourc'h et al., 2007).

Ticks on bank voles were collected from the entire body for counting and identification to species level under an optical microscope (all done by M. Marsot). Both larvae and nymph of *I. ricinus* represented 93.1% of identified specimens (n = 786), the remaining belonging to *Dermacentor reticulatus* (2.9%), *Ixodes trianguliceps* (2.0%) and *I. acuminatus* (1.9%). *Ixodes ricinus* is the major vector for Lyme borreliosis in Europe. The agent has been isolated in the two other species of *Ixodes* but their role in transmission has not been demonstrated. The role of *D. reticulatus* is poorly known (Pérez-Eid, 2007). No adult ticks were recovered from bank voles. Because we included all ixodid species for chipmunks, we did the same for bank voles.

2.4. Questing I. ricinus

Questing stages of ticks were sampled monthly by dragging a 1 m^2 woollen blanket over the vegetation on two 0.5 ha sites of the study area, one in the open and another in the closed forest habitat. Within each site, 15 U of 10 m^2 were randomly dragged in 2005 and 2006, and 16 U in 2007 and 2008. Drags were conducted early in the afternoon, avoiding rainy days, and nymphs and larvae were counted exhaustively. A total of 1082 questing nymphs and 36 adults were collected, of which all were further identified under the microscope as *I. ricinus* except one adult of *D. reticulatus* (E. Ferquel, personal observation).

2.5. Data analyses

For chipmunks, due to the lack of J1s until April and of J2s until August each year during the study period, and the absence of J1s until July in 2006 (Marmet et al., 2009), we investigated the variation in larval and nymphal counts according to year, habitat, age and sex only in 2005, 2007 and 2008 without including a month effect. As adults were present throughout the study period, we also tested for the effect of habitat, year, month and sex on variation in their tick counts. We used mixed models (Pinheiro and Bates, 2000; Patterson and Lello, 2003; Bolker et al., 2009; Zuur et al., 2009) both to estimate individual consistency in tick load, also including autocorrelation structure due the temporal nature of data collection, and to test for the effects of year, habitat, month, age and sex (see Supplementary data S1).

Using Generalized Linear Models with negative binomial errors and a log link (Wilson and Grenfell, 1997; Venables and Ripley, 2002; Crawley, 2007), we investigated the effects of habitat, year, month and sex on tick counts on adult voles. For questing nymphs, we used data collected from April to October of each summer period as only a few nymphs were collected in March. We investigated the effects of habitat, year and month. Models were backward selected using likelihood ratio tests (noted LRT). Because we could not reach satisfactory fits with the model on questing larvae, only descriptive patterns of variation in their abundance are presented.

In all the models described above, sources of variation were investigated up to two-way interactions between factors. We used non-transformed mean numbers and their standard errors in all the figures and in the table. All the statistical analyses were done using R 2.8.1 (R Development Core Team, 2008, http://www.R-project.org).

3. Results

3.1. Feeding larvae

We did not detect any significant temporal autocorrelation in our model of larval loads on adult chipmunks (Supplementary Table S1). Chipmunk identity significantly explained 31.1% of the variation in repeated larval counts. We found a significant interaction between year and month. Each year, infestation by larvae on adult chipmunks increased from March until May, June or July, depending on the year of the study. Larvae then decreased until October (Fig. 1). A significant effect of year and habitat was detected (Supplementary Table S1), with chipmunks inhabiting the closed habitat being more heavily infested by larvae than those in the open habitat in 2006 and 2008, but not in 2005 and 2007 (Table 1). Finally, a significant interaction between year and sex was observed (Supplementary Table S1): between 2005 and 2007, males had higher loads of larvae than females, except in 2008 where both sexes had a low degree in larval infestation (Table 1). The three other two-way interactions were not significant (Supplementary Table S1).

Including juveniles, and controlling for significant temporal and identity effects (Supplementary Table S1), a significant interaction between age and sex was found (Supplementary Table S1). The maximum in mean larval counts for J1s were on males (Table 1), and larval infestation on J2s remained identical over the study period (Fig. 1; Table 1). Overall, adult males harboured significantly more larvae than adult females and than J1s and J2s (Table 1). We also found significant effects of year and habitat (Supplementary Table S1), both following the same pattern as for adult variation in larval infestation (Table 1).

On bank voles, the best minimal model that could be retained was a three-way interaction between year, month and sex (df = 7, LRT = 17.73, $P = 0.01$). Males had significantly higher loads of larvae than females (Table 1), with highest loads between July and September in 2007 (Fig. 2). Overall, both females and males had lower larval burdens in 2008 than in 2007.

3.2. Feeding nymphs

We did not find any temporal autocorrelation in the model of nymph infestation, and chipmunk identity significantly explained 23.9% of the variation in nymph counts with a strong fit to the data (Supplementary Table S2). Controlling for the identity effect, we found a significant interaction between year and month (Supplementary Table S2). Between 2005 and 2008, yearly counts of nymphs on adults began to increase in March, reaching a peak in May or in June, then decreasing in July or August, and remaining stable until October (Fig. 1). No other two-way interaction was found to be significant (Supplementary Table S2). Overall, adult males had heavier nymph burdens than females (Table 2).

Controlling for a significant identity effect, but not any temporal autocorrelation, the model including juveniles gave a satisfactory fit to the data (Supplementary Table S2). There was no effect of habitat, and no interaction between factors, but a single effect of age, sex or year (Supplementary Table S2). Separating by age and sex, adult females hosted significantly fewer nymphs than adult males, and adults of both sexes than both sexes of J1s and J2s (Table 2). Additionally, adult males had heavier loads of nymphs in 2005.

On bank voles, we found a significant effect of habitat (df = 1, LRT = 5.69, $P = 0.02$) and of sex (df = 1, LRT = 4.99, $P = 0.03$), but not of month or year taken as single effect, and all these factors tested in interaction. Voles in the closed habitat had a significantly higher mean nymph load (0.28 ± 0.05, $n = 152$) than in the open habitat (0.16 ± 0.03, $n = 194$). Males had a significantly higher nymph load (0.27 ± 0.04, $n = 175$) than females (0.15 ± 0.04, $n = 171$).

3.3. Questing ticks

For questing nymphs, we found significant effects for habitat and year, habitat and month, and year and month (Table 3). Overall, questing nymph abundance varied seasonally (Fig. 1), increasing from March until June or July depending on the year, and then decreasing until October. Nymphs were much less abundant on the open habitat than on the closed habitat, except for May and June 2008 (Fig. 1). Mean counts (Fig. 1) followed a regular seasonal pattern, reaching a peak between May and September, except in 2006 when very a high abundance of larvae occurred in the closed habitat in May.

Questing larvae were more irregularly distributed over time in the open habitat, with very low abundance in 2005 and 2006, and monthly variation in 2007 and 2008.

3.4. Biomass of hosts per hectare

At the peak of questing tick availability in June, the average biomass of chipmunks was 420 g/ha in 2007 and 309 g/ha in 2008 (based on the product of mean body mass and density: Table 4), whereas it was 363 g/ha in 2007 and 264 g/ha in 2008 for bank voles.

4. Discussion

Siberian chipmunks introduced in the Forêt of Sénart hosted approximately 27–69 times more ixodid ticks than native bank voles at the peak of questing stage availability in June (see Table 1), despite representing similar biomasses. Even if our biomass density for voles is biased due to uncertainty about the estimation of an

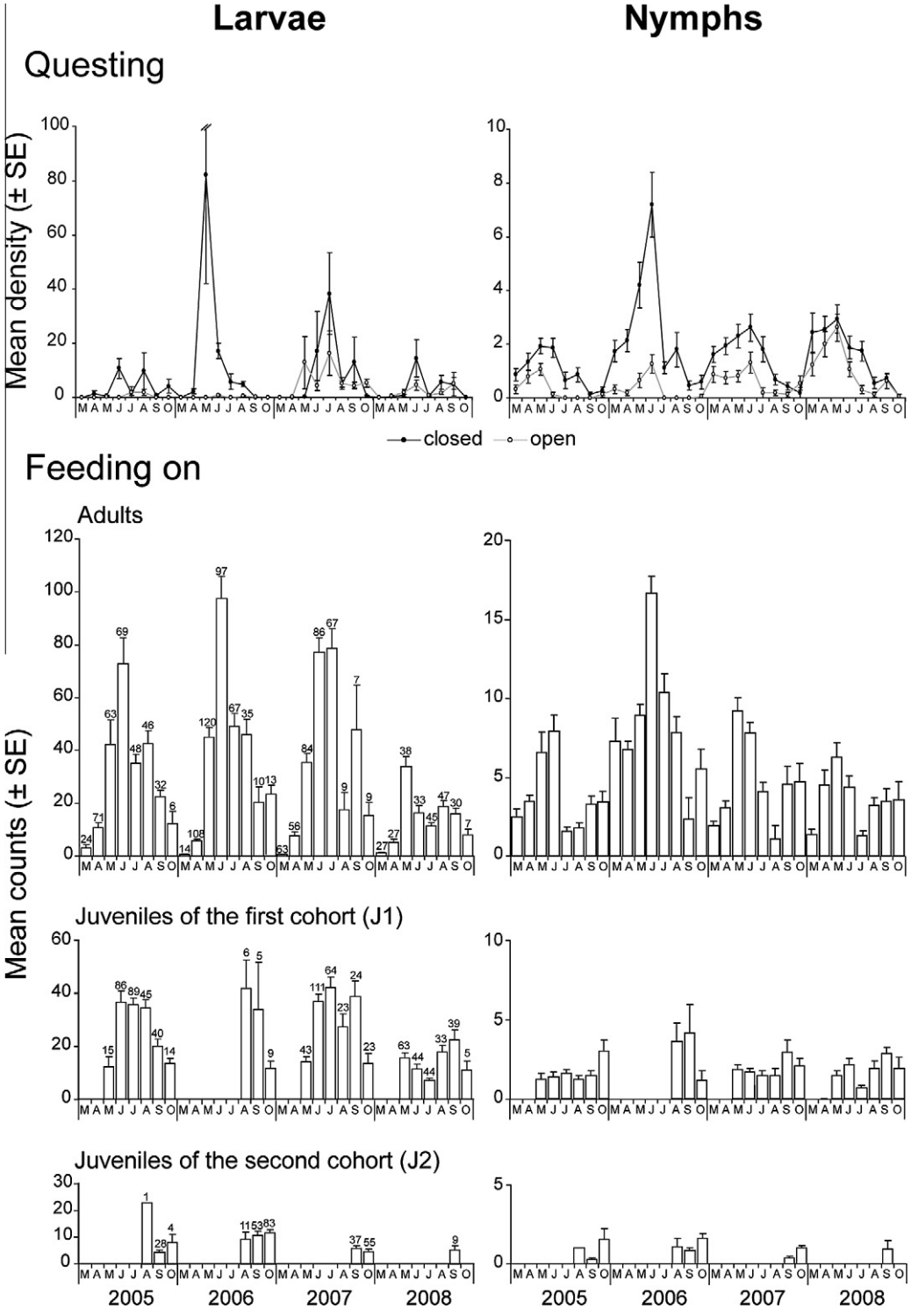


Fig. 1. Monthly variation in mean density of questing stages of *Ixodes ricinus* per 10 m^2 according to open and closed habitats, and mean counts of feeding stages of ixodids according to the ages of chipmunks between 2005 and 2008 on the Forêt de Sénart (France). Numbers of examined hosts are indicated above bars for larvae, the same applying for nymphs. An absence of sample size indicates no chipmunks were trapped. SE, standard error.

effective trapping area around the trapping lines (Parmenter et al., 2003; Efford, 2004), we are confident that the difference in tick infestation rates between the two species is strong enough to be reliable.

An adult chipmunk is four to five times larger than an adult vole (Table 4). Such a difference in body size allows these ground squirrels to contact questing ticks efficiently at more variable heights above ground level than smaller rodents such as voles. Indeed, larvae quest lower than nymphs (Mejlon and Jaenson, 1997). This hypothesis is supported by the observation that chipmunks appear to feed larvae and nymphs in an approximately c.10:1 ratio, which is close to the one observed for both stages of questing ticks (see Fig. 1). This is in marked contrast to small rodents, which are generally so small that they run about beneath available questing ticks. Indeed, in voles trapped and analyzed between May and July

Table 1
Mean number of ixodid larvae, according to year, age, sex and habitat, on Siberian chipmunks in the Forêt de Sénart (France) between 2005 and 2008, and on adult bank voles in 2007 and 2008.

Year	Age	Sex	Closed habitat					Open habitat				
			Chipmunks			Voles		Chipmunks			Voles	
			N	*n*	Mean ± SE	N	Mean ± SE	N	*n*	Mean ± SE	N	Mean ± SE
2005	Ad.	♀	36	159	30 ± 4	–	–	23	108	30 ± 3	–	–
		♂	13	51	43 ± 7			8	41	67 ± 17		
	J1	♀	28	78	32 ± 4	–	–	13	60	31 ± 4	–	–
		♂	29	59	32 ± 4			27	91	26 ± 2		
	J2	♀	14	16	6 ± 2	–	–	3	4	3 ± 1	–	–
		♂	8	10	4 ± 1			3	3	5 ± 4		
2006	Ad.	♀	47	196	44 ± 3	–	–	24	93	33 ± 3	–	–
		♂	30	115	55 ± 7			19	60	47 ± 8		
	J1	♀	4	11	17 ± 6	–	–	1	2	5; 3	–	–
		♂	3	5	47 ± 13			1	2	25; 14		
	J2	♀	18	34	11 ± 2	–	–	22	31	9 ± 1	–	–
		♂	25	41	9 ± 1			30	41	11 ± 2		
2007	Ad.	♀	38	149	35 ± 3	41	2 ± 1	20	74	27 ± 4	56	1 ± 0.2
		♂	31	107	60 ± 6	45	6 ± 1	18	51	47 ± 7	57	5 ± 1
	J1	♀	30	88	28 ± 2	–	–	22	59	25 ± 3	–	–
		♂	37	80	33 ± 4			29	61	36 ± 4		
	J2	♀	23	33	5 ± 1	–	–	4	7	7 ± 4	–	–
		♂	27	33	4 ± 1			18	20	3 ± 1		
2008	Ad.	♀	42	99	19 ± 2	35	1 ± 0.2	18	47	9 ± 2	39	1 ± 0.2
		♂	32	75	17 ± 2	31	1 ± 0.2	22	33	12 ± 3	42	1 ± 0.3
	J1	♀	39	85	14 ± 1	–	–	25	48	9 ± 1	–	–
		♂	30	52	16 ± 2			29	45	10 ± 2		
	J2	♀	2	2	0; 5	–	–	1	1	5	–	–
		♂	5	5	5 ± 3			1	1	3		

Ad., adult; J1, J2, juveniles; *N*, number of chipmunks individuals examined; *n*, number of examinations of these chipmunks. Voles were sampled and examined once; SE, standard error.

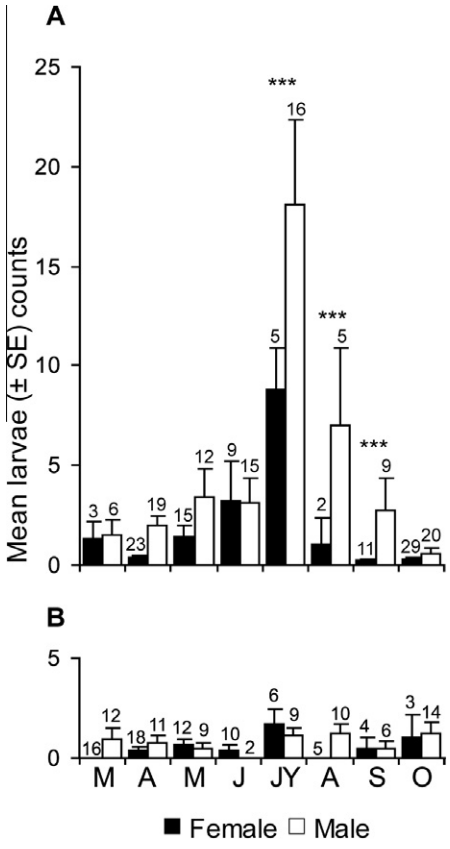


Fig. 2. Variation in monthly mean ixodid tick counts according to sex in adult bank voles at Forêt de Sénart (France) in (A) 2007 and (B) 2008. ***: $P < 0.001$; SE, standard error. Months March to October are indicated by initials.

2005 (Vourc'h et al., 2007), this ratio was approximately c.83-fold, ~46-fold in May–July 2007, and ~53-fold in May–July 2008, indicating that voles picked up far fewer nymphs than larvae. The infestation ratio between larvae and nymphs is of prime importance for the maintenance of pathogenic agents in reservoir hosts (Randolph and Storey, 1999). For the dynamics to be maintained in an ecosystem, reservoirs must host both stages because they become infected by nymphs, and transmit the infection to larvae, that subsequently become infected questing nymphs. Because chipmunks have such a high ratio of larvae to nymphs, and because Vourc'h et al. (2007) have shown that chipmunks are infected by Lyme disease, we can expect, if those are confirmed as reservoir hosts, that those will produce more infected ticks than the bank voles and thus may be major reservoir hosts where they have been introduced with vectors.

Some unmeasured characteristics of rodent hosts are responsible for individual variation in infestation by *Ixodes* spp. (Brunner and Ostfeld, 2008). Such predisposition to infestation (Hudson and Dobson, 1995) significantly explained why some Siberian chipmunks were consistently more heavily infested by tick larvae and nymphs than others, mostly *I. ricinus*, and confirms results of an earlier behavioural study based on a sub-sample of chipmunks at the same study site (Boyer et al., 2010). This result is also in accordance with patterns of infestation by *I. ricinus* on yellow-necked wood mice *Apodemus flavicollis* (Perkins et al., 2003). Adult Siberian chipmunks at the Forêt de Sénart show strong multi-year site fidelity in home range (Marmet et al., 2009). Therefore, any consistency in exposure to questing stages of ticks (Wilson et al., 1990, 2002) could partly explain individual host consistency in tick loads.

Tick burdens in adult rodents, both native and introduced, were related to sex, and to age in chipmunks. These results are in accordance with highest frequency of occurrence in *I. ricinus* found on larger male rodents (Randolph, 1975; Perkins et al., 2003; Harrison et al., 2010). Siberian chipmunks do not show sexually dimorphic

Table 2
Mean number of ixodid nymphs on male and female Siberian chipmunks of different ages and during different years, in the Forêt de Sénart (France).

Age	Sex	2005		2007		2008	
		n	Mean ± SE	*n*	Mean ± SE	*n*	Mean ± SE
Adults	♀	267	3.2 ± 0.3	223	1.7 ± 0.4	146	3.1 ± 0.3
	♂	92	5.2 ± 0.7	158	2.0 ± 0.4	108	3.7 ± 0.4
J1	♀	138	1.6 ± 0.2	147	1.7 ± 0.2	133	1.7 ± 0.2
	♂	150	1.6 ± 0.2	141	2.0 ± 0.2	97	1.2 ± 0.2
J2	♀	20	0.7 ± 0.2	40	0.9 ± 0.2	3	1.7 ± 2.0
	♂	13	0.4 ± 0.2	53	0.7 ± 0.1	6	0.5 ± 0.4

J1, J2, juveniles; *n*, number of examinations of chipmunks; SE, standard error.

Table 3
Backward selection of generalized linear models using likelihood ratio tests (LRTs) exploring the variation in questing *Ixodes ricinus* nymphs.

Sources of variation	df	LRT	*P*
Habitat:Year	8	25.60	<0.001
Habitat:Month	14	39.32	<0.001
Year:Month	14	33.08	<0.001

Table 4
Mean body mass (±standard error, in g) and density ([95% confidence interval], in number/ha) of adult of chipmunks *Tamias sibiricus* and bank voles *Myodes glareolus* in June 2007 and 2008 in Sénart (France).

Year	Chipmunks			Bank voles		
	n	Mass	Density	*n*	Mass	Density
2007	61	100 ± 1	4.2 [1–8]	24	25 ± 1	14.5 [13–21]
2008	37	103 ± 1	3.0 [1–4]	12	22 ± 1	12.0 [9–21]

body size (Obolenskaya et al., 2009). Thus, any sex differences in tick load may be caused by differences in genetics (Coltman et al., 2001), physiology (Perez-Orella and Schulte-Hostedde, 2005), immune status (Hughes and Randolph, 2001) or in activity, exploration and space use (Boyer et al., 2010). Moreover, the lower infestation by both tick stages on juveniles compared with adults can be mainly related to the limited space used by juveniles (Marmet et al., 2009, 2010), as already described for small rodents (Brown, 1956; Kikkawa, 1964; Randolph, 1973, 1975).

Yearly fluctuation in infestation by ticks on rodents can be partly attributed to spatial differences in survival or activity of questing stages (Randolph et al., 2002; Randolph, 2004). Habitat was found to influence larval load on chipmunks in the Forêt de Sénart (Boyer et al., 2010), with lower infestations on hosts inhabiting the open habitat than on the closed habitat of the study site. This is in accordance with the highest number of questing stages of *I. ricinus* observed on the closed habitat where soil-litter cover is more humid and deeper (Marmet, 2008), thus more suitable for questing *I. ricinus* (Pérez-Eid, 2007). Moreover, the closed habitat offers preferred resting sites for roe deer, *Capreolus capreolus*, which are important hosts for *I. ricinus* (Wilson et al., 1990; Perkins et al., 2006). Additionally, availability in alternative rodent hosts can modify the temporal abundance of ixodids on chipmunks (Schmidt et al., 1999; Brunner and Ostfeld, 2008). Wood mouse density on our study site increased by 2.3-fold in June between 2007 and 2008 (data not shown). The increased capture of infesting larvae by wood mice could partly explain the decrease in ixodids on both chipmunks and bank voles. Indeed, wood mice host twice as many ticks as bank voles (Vourc'h et al., 2007). This difference was related to lower immune resistance in mice than in voles (Kurtenback et al., 1994; Dizij and Kurtenbach, 1995). More data are needed to investigate the role of wood mice influencing the pattern of infestation by ixodids in our small rodent community.

This study confirms earlier findings that introduced chipmunks harbour many more *I. ricinus* compared with native rodent host species in a boreal European suburban forest (Vourc'h et al., 2007). Our study highlights the well-known roles of spatial, temporal and host individual characteristics – i.e. age and sex – in seasonal patterns of ixodid infestations in rodents (Perkins et al., 2003; Brunner and Ostfeld, 2008). It raises the question of the predisposition, either in susceptibility or exposure (Hudson and Dobson, 1995) for an introduced rodent to native parasites (Tompkins and Poulin, 2006; Kelly et al., 2009) with a short history of co-adaptation – i.e. less than 80 generations over ~40 years – and its potential role in the increased dynamics of the Lyme borreliosis by outweighing the role of its main native reservoir, the bank vole (Vourc'h et al., 2007), in French suburban forests where the vector is present.

Acknowledgements

Many thanks goes to F. Bart, C. Huchery, C. Jérusalem, M. Laprun, O. Norvez, J. Prieur and M. Roussel for help in the field, P. Gasqui for advice and comments on statistical analyses. E. Ferquel identified the tick species sampled on the vegetation. The authors would also like to thank Ian Beveridge and two anonymous referees for their useful comments on the manuscript. Carolyn L. Hall kindly improved the English of an earlier draft of the manuscript. This work was funded by the Conseil Régional d'Ile-de-France, the Conseil Général des Hauts-de-Seine, and the Office National des Forêts, France.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1016/j.ijpara.2010.03.012.

References

Azakawa, M., 2005. Perspectives of host–parasite relationships between rodents and nematodes in Japan. Mammal Study 30, S95–S99.
Barnard, C.J., Behnke, J.M., 2006. Behavior, life history strategies and parasite infection in rodents. In: Morand, S., Krasnov, B., Poulin, R. (Eds.), Micromammals and Macroparasites: From Evolutionary Ecology to Management. Springer-Verlag, Tokyo, Japan, pp. 475–511.
Barton, D., 1997. Introduced animals and their parasites: the cane Toad, *Bufo marinus*, in Australia. Aust. J. Ecol. 22, 316–324.
Begon, M., 2008. Effect of host diversity on disease dynamics. In: Ostfeld, R.S., Keesing, F., Eviner, V.T. (Eds.), Effects of Ecosystems on Disease and of Disease on Ecosystems. Princeton University Press, Princeton, pp. 12–29.
Bolker, B.M., Brooks, M.E., Clark, C.J., Geange, S.W., Poulsen, J.R., Stevens, M.H.H., White, J.-S.S., 2009. Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. Trends Ecol. Evol. 24, 127–135.
Boyer, N., Réale, D., Marmet, J., Pisanu, B., Chapuis, J.-L., 2010. Personality, space use, and tick load in a population of Siberian chipmunk, *Tamias sibiricus*. J. Anim. Ecol. 79, 538–547.
Brown, L.E., 1956. Movements of some British small mammals. J. Anim. Ecol. 25, 54–71.
Brunner, J.L., Ostfeld, R.S., 2008. Multiple causes of variable tick burdens on small-mammal hosts. Ecology 89, 2259–2272.

Chapuis, J.-L., 2005. Répartition en France d'un animal de compagnie naturalisé, le Tamia de Sibérie (*Tamias sibiricus*). Rev. Ecol. (Terre Vie) 60, 239–253.
Charbonnel, N., Goüy de Bellocq, J., Morand, S., 2006. Immunogenetics of micromammal–macroparasites interactions. In: Morand, S., Krasnov, B., Poulin, R. (Eds.), Micromammals and Macroparasites: From Evolutionary Ecology to Management. Springer-Verlag, Tokyo, pp. 401–442.
Coltman, D.W., Pilkington, J., Bruuk, L.E.B., Wilson, K., Pemberton, J.M., 2001. Positive genetic correlation between parasite resistance and body size in a free-living ungulate population. Evolution 55, 2116–2125.
Craine, N.G., Randolph, S.E., Nuttall, P.A., 1995. Seasonal variation in the role of grey squirrels as hosts of *Ixodes ricinus*, the tick vector of the Lyme disease spirochaete, in a British woodland. Folia Parasitol. 42, 73–80.
Crawley, M.J., 2007. The R Book. John Wiley & Sons, Ltd., Chichester.
Daszak, P., Cunningham, A.A., Hyatt, A.D., 2000. Emerging infectious diseases of wildlife – threats to biodiversity and human health. Science 287, 443–449.
Dizij, A., Kurtenbach, K., 1995. *Clethrionomys glareolus*, but not *Apodemus flavicollis*, acquires resistance to *Ixodes ricinus* L., the main European vector of *Borrelia burgdorferi*. Parasitol. Immunol. 17, 177–183.
Dobson, A., 2004. Population dynamics of pathogens with multiple host species. Am. Nat. 164, S64–S78.
Dobson, A., Foufoupoulos, J., 2001. Emerging infectious pathogens of wildlife. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B 356, 1001–1012.
Efford, M.G., 2004. Density estimation in live-trapping studies. Oikos 106, 598–610.
Efford, M.G., Dawson, D.K., Robbins, C.S., 2004. Density: software for analysing capture-recapture data from passive detector arrays. Anim. Biodiv. Conserv. 27, 217–228.
Godsey, M., Amundson, T., Burgess, E., Schell, W., Davis, J., Kaslow, R., Edelman, R., 1987. Lyme disease ecology in Wisconsin – distribution and host preferences of *Ixodes dammini*, and prevalence of antibody to *Borrelia burgdorferi* in small mammals. Am. J. Epidemiol. 37, 180–187.
Harrison, A., Scantlebury, M., Montgomery, W.I., 2010. Body mass and sex-biased parasitism in wood mice *Apodemus sylvaticus*. Oikos. doi:10.1111/j.1600-0706.2009.18072.x.
Hubálek, Z., Halouzka, J., Juøicová, Z., 2003. Host-seeking activity of ixodid ticks in relation to weather variables. J. Vector Ecol. 28, 159–165.
Hudson, P.J., Dobson, A.D., 1995. Macroparasites: observed patterns in naturally fluctuating animal populations. In: Grenfell, B.T., Dobson, A.P. (Eds.), Ecology of Infectious Diseases in Natural Populations. Cambridge University Press, pp. 144–176.
Hughes, V.L., Randolph, S.E., 2001. Testosterone depresses innate and acquired resistance to ticks in natural rodent hosts: a force for aggregated distribution of parasites. J. Parasitol. 87, 49–54.
Kelly, D.W., Paterson, R.A., Townsend, C.R., Poulin, R., Tompkins, D.M., 2009. Parasite spillback: a neglected concept in invasion ecology? Ecology 90, 2047–2056.
Kikkawa, J., 1964. Movement, activity and distribution of the small rodents *Clethrionomys glareolus* and *Apodemus sylvaticus* in woodland. J. Anim. Ecol. 33, 259–299.
Krakau, M., Thieltges, D.W., Reise, K., 2006. Native parasites adopt introduced bivalves of the North Sea. Biol. Invasions 8, 919–925.
Krasnov, B., Stanko, M., Morand, S., 2007. Host community structure and infestation by ixodid ticks: repeatability, dilution effect and ecological specialization. Oecologia 154, 185–194.
Kurtenback, K., Dizij, A., Martin Seitz, H., Margos, G., Moter, S.E., Kramer, M.D., Wallich, R., Schaible, U.E., Simon, M.M., 1994. Differential immune response to *Borrelia burgdorferi* in European wild rodent species influence Spirochete transmission to *Ixodes ricinus* L. (Acari: Ixodidae). Infect. Immun. 62, 5344–5352.
LoGiudice, K., Ostfeld, R.S., Schmidt, K.A., Keesing, F., 2003. The ecology of infectious disease: effects of host diversity and community composition on Lyme disease risk. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100, 567–571.
LoGiudice, K., Duerr, S., Newhouse, M., Schmidt, K., Killilea, M., Ostfeld, R., 2008. Impact of host community composition on Lyme disease risk. Ecology 89, 2841–2849.
Lv, S., Zhang, Y., Liu, H.-X., Hu, L., Yang, K., Steinmann, P., Chen, Z., Wang, L.-Y., Utzinger, J., Zhou, X.-N., 2009. Invasive snails and an emerging infectious disease: results from the first national survey on *Angiostrongylus cantonensis* in China. PLoS Negl. Trop. Dis. 3, e368.
Marmet, J., 2008. Traits d'histoire de vie du Tamia de Sibérie *Tamias sibiricus*, espèce exotique naturalisée dans la Forêt de Sénart (Essonne): démographie, biologie de la reproduction, occupation de l'espace et dispersion. Ph.D. Thesis, Muséum National d'Histoire Naturelle, p. 172.
Marmet, J., Chapuis, J.-L., 2007. Répartition de l'écureuil de Corée (*Tamias sibiricus*), animal de compagnie exotique introduit en France: résultats de l'enquête nationale de 2005. In: Tillon, L. (Ed.), Les Mammifères forestiers, actes du XXVIIIème colloque francophone de Mammalogie de la SFEPM, Rambouillet, France. Collection dossiers forestiers, pp. 27–31.
Marmet, J., Pisanu, B., Chapuis, J.-L., 2009. Home range, range overlap, and site fidelity of introduced Siberian chipmunks in a suburban French forest. Eur. J. Wildl. Res. 55, 497–504.
Marmet, J., Pisanu, B., Chapuis, J.-L., 2010. Natal dispersal of introduced Siberian chipmunks, *Tamias sibiricus*, in a suburban forest. J. Ethol. doi:10.1007/s10164-010-0215-3.
Mejlon, H.A., Jaenson, T.G.T., 1997. Questing behaviour of *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae). Exp. Appl. Acarol. 21, 747–754.
Moore, S.L., Wilson, K., 2002. Parasites as a viability cost of sexual selection in natural populations of mammals. Science 297, 2015–2018.
Obolenskaya, E.V., Lee, M.Y., Dokuchaev, N.E., Oshida, T., Lee, M.S., Lee, H., Lissovsky, A.A., 2009. The diversity of Palaearctic chipmunks (*Tamias*, Sciuridae). Mammalia 73, 281–298.
Ostfeld, R.S., Canham, C.D., Oggenfuss, K., Winchcombe, R.J., Keesing, F., 2006. Climate, deer, rodents, and acorns as determinants of variation in Lyme-disease risk. PLoS Biol. 4, 1058–1068.
Otis, D.L., Burhnam, K.P., White, G.C., Anderson, D.R., 1978. Statistical inference from capture data on closed animal populations. Wildl. Monogr. 62, 1–135.
Parmenter, R.R., Yates, L.Y., Anderson, D.R., Burnham, K.P., Dunnum, J.L., Franklin, A.B., Friggens, M.T., Lubow, B.C., Miller, M., Olson, G.S., Parmenter, C.A., Pollard, J., Rexstad, E., Shenk, T.M., Stanley, T.R., White, G.C., 2003. Small-mammal density estimation: a field comparison of grid-based vs. web-based density estimators. Ecol. Monogr. 73, 1–26.
Patterson, S., Lello, J., 2003. Mixed models: getting the best use of parasitological data. Trends Parasitol. 19, 370–375.
Pérez-Eid, C., 2007. Les tiques: identification, biologie, importance médicale et vétérinaire. Lavoisier, Paris.
Perez-Orella, C., Schulte-Hostedde, A.I., 2005. Effect of sex and body size on ectoparasite loads in the northern flying squirrel (*Glaucomys sabrinus*). Can. J. Zool. 83, 1381–1385.
Perkins, S.E., Cattadori, I.M., Tagliapietra, V., Rizzoli, A.P., Hudson, P.J., 2003. Empirical evidence for key hosts in persistence of a tick-borne disease. Int. J. Parasitol. 33, 909–917.
Perkins, S.E., Cattadori, I.M., Tagliapietra, V., Rizzoli, A.P., Hudson, P.J., 2006. Localized deer absence leads to tick amplification. Ecology 87, 1981–1986.
Pinheiro, J., Bates, D., 2000. Mixed-Effects Models in S and S-PLUS. Springer, New York.
Pisanu, B., Marmet, J., Beaucournu, J.-C., Chapuis, J.-L., 2008. Diversité du cortège en Siphonaptères chez le Tamia de Sibérie (*Tamias sibiricus* Laxmann) introduit en Forêt de Sénart. Parasite 15, 35–43.
Pisanu, B., Lebailleux, L., Chapuis, J.-L., 2009. Why do Siberian chipmunks *Tamias sibiricus* (Sciuridae) introduced in French forests acquired so few intestinal nematode species from native sympatric Murids? Parasitol. Res. 104, 709–714.
Poulin, R., 1996. Sexual inequalities in helminth infections: a cost of being a male? Am. Nat. 147, 287–295.
Prenter, J., MacNeil, C., Dick, J.T.A., Dunn, A.M., 2004. Roles of parasites in animal invasions. Trends Ecol. Evol. 19, 385–390.
Randolph, S.E., 1973. A tracking technique for comparing individual home ranges of small mammals. J. Zool. Lond. 170, 509–520.
Randolph, S.E., 1975. Patterns of distribution of the tick *Ixodes trianguliceps* Birula on its hosts. J. Anim. Ecol. 44, 451–474.
Randolph, S.E., 2004. Tick ecology: processes and patterns behind the epidemiological risk posed by Ixodid ticks as vectors. Parasitology 129, S37–S65.
Randolph, S.E., Storey, K., 1999. Impact of microclimate on immature tick-rodent host interactions (Acari: Ixodidae): implications for parasite transmission. J. Med. Entomol. 36, 741–748.
Randolph, S.E., Green, R.M., Hoodless, A.N., Peacey, M.F., 2002. An empirical quantitative framework for the seasonal population dynamics of the tick *Ixodes ricinus*. Int. J. Parasitol. 32, 979–989.
Schmidt, K.A., Ostfeld, R.S., Schauber, E.M., 1999. Infestation of *Peromyscus leucopus* and *Tamias striatus* by *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in relation to the abundance of hosts and parasites. J. Med. Entomol. 36, 749–757.
Shaw, M.T., Keesing, F., McGrail, R., Ostfeld, R.S., 2003. Factors influencing the distribution of larval blacklegged ticks on rodent hosts. Am. J. Trop. Med. Hyg. 68, 447–452.
Swaddle, J.P., Calos, S.E., 2008. Increased avian diversity is associated with lower incidence of human West Nile infection: observation of the dilution effect. PLoS ONE 3, e2488.
Thieltges, D.W., Reise, K., Prinz, K., Jensen, K.T., 2009. Invaders interfere with native parasite–host interactions. Biol. Invasions 11, 1421–1429.
Tompkins, D.M., Poulin, R., 2006. Parasites and biological invasions. In: Allen, R.B., Lee, W.G. (Eds.), Biological Invasions in New Zealand. Ecological Studies, vol. 186. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 67–84.
Venables, W.N., Ripley, B.D., 2002. Modern Applied Statistics with S, fourth ed. Springer, New York.
Vourc'h, G., Marmet, J., Chassagne, M., Bord, S., Chapuis, J.-L., 2007. *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Siberian Chipmunks (*Tamias sibiricus*) introduced in suburban forests. Vector Borne Zoonotic Dis. 7, 637–642.
Welc-Falęciak, R., Bajer, A., Behnke, J.M., Siński, E., 2008. Effects of host diversity and the community composition of hard ticks (Ixodidae) on *Babesia microti* infection. Int. J. Med. Microbiol. 298, 235–242.
Wilson, K., Grenfell, B.T., 1997. Generalized linear modelling for parasitologists. Parasitol. Today 13, 33–38.
Wilson, K., Bjørnstad, O.N., Dobson, A.P., Merler, S., Poglayen, G., Randolph, S.E., Read, A.F., Skorping, A., 2002. Heterogeneities in macroparasite infections: patterns and processes. In: Hudson, P.J., Rizzoli, A., Grenfell, B.T., Heesterbeek, H., Dobson, A.P. (Eds.), The Ecology of Wildlife Diseases. Oxford University Press, Oxford, UK, pp. 6–44.
Wilson, M.L., Ducey, A.M., Litwin, T.S., Gavin, T.A., Spielman, A., 1990. Microgeographic distribution of immature *Ixodes dammini* ticks correlated with that of deer. Med. Vet. Entomol. 4, 151–159.
Zuur, A.F., Ieno, E.N., Walker, N.J., Saveliev, A.A., Smith, G.M., 2009. Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R. Springer, New York.

Supplementary Data S1.

1. Mixed models analyses

Firstly, in order to test for a role of host identity in explaining consistent individual differences in tick loads (or 'random effect'; see Patterson and Lello, 2003), we used Linear Mixed Models (LMM) on log(+1) transformed larvae counts. We built three different models: a first model, named the full model, included chipmunk identity as a random effect and a temporal autocorrelation in tick counts by fitting a corAR1 matrix of correlation (because of the longitudinal nature of the data set (i.e. two counts made close in time may be more similar than two counts made further apart; see Pinheiro and Bates, 2000; Crawley, 2007) we included a temporal autocorrelation structure); a second model included only chipmunk identity as a random effect, but excluded the autocorrelation; a third model was a simple linear model excluding random effects and autocorrelation (using the 'lm' function). The significance of individual or autocorrelation effects was tested using Likelihood ratio tests (LRTs; using the 'nlme' package: Pinheiro and Bates, 2000; Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., and the R Core team 2008. nlme: linear and nonlinear mixed effects models. R package version 3.1-90) comparing a model including the effect and a model excluding it. For this we used the model that included all the explanatory variables (see text [section 2.5]) and their two-way interactions as fixed effects.

Once random effects had been selected, we ran Generalized Linear Mixed Models (GLMMs: Bolker et al., 2009) with monthly tick counts (square root transformed) on chipmunks as a dependant variable and the same previous fixed effects, and chipmunk 'id' or 'date of capture (in days)' as random effects if previously selected in the LMM. We used the 'lmer' function in R with a Poisson error and a log link from the 'lme4' package (Bates, D.M., Maechler, M., Dai, B. 2008. lme4: Linear mixed-effects models using S4 classes. R package version 0.999375-28, http://lme4.r-forge.r-project.org). Fixed effects including all two-way interactions (see text Section 2.5) were selected using a backward procedure based on Wald χ^2 tests from GLMMs calculated with the Laplace approximation method (Bolker et al., 2009). Normal Q-Q plots and Shapiro-Wilks *w*-test were used to check for normality distribution of residuals, and ploting of residuals against fitted values for homogeneity (Bolker et al., 2009; Zuur et al., 2009). Only the results of the

Shapiro-Wilk *w*-tests are given in SupplementaryTables S1 and S2, where a value of $w > 0.95$ indicates normality in residuals distribution.

References

Patterson, S., Lello, J. 2003. Mixed models: getting the best use of parasitological data. Trends Parasitol. 19, 370-375.

Pinheiro, J., Bates, D. 2000. Mixed-effects models in S and S-PLUS. Springer, New York.

Crawley, M.J. 2007. The R book. John Wiley & Sons, Ltd., Chichester.

Bolker, B.M., Brooks, M.E., Clark, C.J., Geange, S.W., Poulsen, J.R., Stevens, M.H.H., White, J.-S.S. 2009. Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. Trends Ecol. Evol. 24, 127-135.

Zuur, A.F., Ieno, E.N., Walker, N.J., Saveliev, A.A., Smith, G.M. 2009. Mixed effects models and extensions in ecology with R. Springer, New York.

Annexe 2

Marsot M., Sigaud M., Chapuis J.-L., Ferquel E., Cornet M. et Vourc'h G.: "*Introduced Siberian chipmunks* (Tamias sibiricus barberi) *harbour more diverse* Borrelia burgdorferi *sensu lato genospecies than native bank voles (*Myodes glareolus*).*" Applied and Environmental Microbiology, 2011

Applied and Environmental Microbiology, Aug. 2011, p. 5716–5721 Vol. 77, No. 16
0099-2240/11/$12.00 doi:10.1128/AEM.01846-10
Copyright © 2011, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Introduced Siberian Chipmunks (*Tamias sibiricus barberi*) Harbor More-Diverse *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato Genospecies than Native Bank Voles (*Myodes glareolus*)▽

M. Marsot,[1,2] M. Sigaud,[3] J. L. Chapuis,[2] E. Ferquel,[3] M. Cornet,[3] and G. Vourc'h[1]*

Institut National de la Recherche Agronomique, UR 346 Epidémiologie Animale, 63122 Saint Genès Champanelle, France[1]; Muséum National d'Histoire Naturelle, Département Ecologie et Gestion de la Biodiversité, UMR 7204 CERSP MNHN-CNRS-P6, 61 Rue Buffon, CP 53, 75231 Paris Cedex 05, France[2]; and Institut Pasteur, Centre National de Référence des Borrelia, 25-28 Rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15, France[3]

Received 3 August 2010/Accepted 12 June 2011

Little attention has been given in scientific literature to how introduced species may act as a new host for native infectious agents and modify the epidemiology of a disease. In this study, we investigated whether an introduced species, the Siberian chipmunk (*Tamias sibiricus barberi*), was a potentially new reservoir host for *Borrelia burgdorferi* sensu lato, the causative agent of Lyme disease. First, we ascertained whether chipmunks were infected by all of the *B. burgdorferi* sensu lato genospecies associated with rodents and available in their source of infection, questing nymphs. Second, we determined whether the prevalence and diversity of *B. burgdorferi* sensu lato in chipmunks were similar to those of a native reservoir rodent, the bank vole (*Myodes glareolus*). Our research took place between 2006 and 2008 in a suburban French forest, where we trapped 335 chipmunks and 671 voles and collected 743 nymphs of ticks that were questing for hosts by dragging on the vegetation. We assayed for *B. burgdorferi* sensu lato with ear biopsy specimens taken from the rodents and in nymphs using PCR and restriction fragment length polymorphism (RFLP). Chipmunks were infected by the three *Borrelia* genospecies that were present in questing nymphs and that infect rodents (*B. burgdorferi* sensu stricto, *B. afzelii*, and *B. garinii*). In contrast, voles hosted only *B. afzelii*. Furthermore, chipmunks were more infected (35%) than voles (16%). These results may be explained by the higher exposure of chipmunks, because they harbor more ticks, or by their higher tolerance of other *B. burgdorferi* sensu lato genospecies than of *B. afzelii*. If chipmunks are competent reservoir hosts for *B. burgdorferi* sensu lato, they may spill back *B. burgdorferi* sensu lato to native communities and eventually may increase the risk of Lyme disease transmission to humans.

The introduction of pathogens infecting several hosts is one of the major causes of emerging infectious diseases (7). Many studies have documented how these introductions can affect native communities of vertebrate hosts (41). The introduction of vertebrate species also is a major driver of biodiversity change (32). Yet, how introduced species act as a new host for native infectious agents and modify disease epidemiology has received little attention (20). This issue is important because the composition of a host community has been shown to modify the transmission dynamics of infectious diseases (3).

We studied the introduction of a potentially new reservoir host for pathogenic bacteria in suburban forests, the Siberian chipmunk, *Tamias* (= *Eutamias*) *sibiricus barberi* Johnson and Jones 1955 (see reference 35). Siberian chipmunks originating from Korea have been sold in European pet shops since the 1960s. Beginning in the 1970s, they have been released intentionally into the wild. Since then, French populations have been identified in 11 suburban forests and urban parks (5).

This study allowed us to determine the consequences of the introduction of chipmunks on the ecology of Lyme disease. This is the most prevalent vector-borne disease for humans in temperate zones of the northern hemisphere (2, 45). Lyme disease is a multihost and multipathogen disease caused by different bacterial genospecies that belong to the *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex. In Europe, these bacteria are transmitted to humans and to reservoir hosts by hard ticks of the *Ixodes ricinus* species (37). *I. ricinus* is a generalist parasite that goes through three life stages (larva, nymph, and adult male or female). With the exception of the adult male, during each stage, the tick takes one blood meal on a vertebrate host either to moult (larvae or nymphs) or to reproduce (adult females). To encounter a host, *I. ricinus* quests on the tips of low vegetation (9). *I. ricinus* feeds on many different vertebrate species of mammals, birds, and reptiles, which can act as a reservoir host of different *B. burgdorferi* sensu lato genospecies. For example, *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. afzelii*, and *B. bavariensis* (previously *B. garinii* Osp A serotype 4) are associated with rodents, while *B. garinii* and *B. valaisiana* are associated with birds (12, 13). Small mammals and birds acquire their infection when a questing infected nymph attaches and feeds on them. Larvae are not considered to be infected, because the vertical transmission of *B. burgdorferi* sensu lato in ticks is very rare (19). Adult ticks only rarely feed on small mammals and birds (36).

* Corresponding author. Mailing address: Institut National de la Recherche Agronomique, UR 346 Epidémiologie Animale, 63122 Saint Genès Champanelle, France. Phone: 33 (0)4 73 62 47 26. Fax: 33 (0)4 73 62 45 48. E-mail: gvourch@clermont.inra.fr.

▽ Published ahead of print on 24 June 2011.

We pursued two objectives in this study. First, we tested whether chipmunks were infected by all of the *B. burgdorferi* sensu lato genospecies associated with rodents and which were available in their source of infection, questing nymphs. To do so, we tested whether the prevalence and diversity of *B. burgdorferi* sensu lato genospecies in chipmunks reflected that found in questing nymphs. Second, we compared the prevalence and diversity of *B. burgdorferi* sensu lato in chipmunks to those of the most abundant and known competent native reservoir rodent, the bank vole (*Myodes glareolus*) (10).

MATERIALS AND METHODS

Study site. The study was conducted 22 km southeast of Paris in the Sénart forest (3,200 ha, more than 3 million visitors per year) on the study site, La Faisanderie (14 ha, 48°39′25′′N, 2°29′40′′E). Siberian chipmunks have been present on the study site since the early 2000s; however, they first appeared in a northwest section of the Sénart forest in the 1970s. The forest now holds the largest population of chipmunks in France (5). In this forest, the rodent community consists mainly of Siberian chipmunks, bank voles, and wood mice (*Apodemus sylvaticus*) (J. L. Chapuis, personal observation). As few wood mice were collected during our daily trapping sessions, they were not investigated in the study.

Datum collection. As part of a broader project on the biology of introduced Siberian chipmunks that were being monitored in a capture-mark-recapture study (27, 38), infection prevalence was studied for chipmunks trapped between the months of March and October over a 3-year period (2006 to 2008). A grid made by 104 geo-localized Sherman traps baited with peanut butter and sunflower seeds was set from sunrise to sunset on an area of 14 ha (27). In 2006 and 2007, two trapping sessions, one lasting three consecutive days and the second five consecutive days, were performed during each study month (27). A 5-day-long trapping session was done every month in 2008 (39). All captured individuals were sexed. The age class (juvenile or adult) was determined by coupling the date of capture and the body weight (see reference 27). One ear biopsy specimen, used to find bacteria in blood and tissue, from each chipmunk (43) was obtained by cutting a small piece (maximum of 3 mm^2) from the ear with scissors, with the sample immediately stored in 90% ethanol. Only chipmunks captured for the first time during the course of the study were analyzed.

Bank voles were caught regularly on the trapping grid (see reference 39). Up to 30 voles were sampled each month in 2006, 2007, and 2008. An ear biopsy specimen was obtained by following the same procedure described for chipmunks to detect the presence of the bacteria in blood and tissue.

Questing *I. ricinus* nymphs were sampled monthly by dragging a 1-m^2 cotton blanket over the vegetation (31) on two sites covering approximately 0.5 ha inside the trapping grid. Within each site, 15 units of 10 m^2 were randomly dragged in 2006, and 16 units were dragged in 2007 and 2008 (see reference 39).

***Borrelia* molecular identification.** DNA from one ear biopsy specimen per chipmunk and per bank vole was extracted using the NucleoSpin tissue kit (Machery-Nagel, Düren, Germany). The presence of *B. burgdorferi* sensu lato in the extracted DNA was detected using a PCR that targets the 16S rRNA gene with 5′-ATGCACACTTGGTGTTAACTA-3′ (nucleotide positions 819 to 842) and 3′-GACTTATCACCGGCAGTCTTA-5′ (1153 to 1173) primers (26). *B. burgdorferi* sensu lato species were identified on positive PCR products using a PCR that targets the intergenic *rrf-rrl* spacer followed by the MseI restriction pattern of products amplified with primer 1 (5′-CTGCGAGITCGCGGGAGA-3′) and primer 2 (5′-TCCTAGGCATTCACCATA-3′) (40). Nymphs were transported still alive to the laboratory, where they were analyzed for infection by *B. burgdorferi* sensu lato. A total of 30 questing nymphs collected each month from each collection site were analyzed. We proceeded using PCR on DNA directly extracted from ticks as described previously (40). Identification at the *B. burgdorferi* sensu lato species level was assessed by PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) of the intergenic *rrf-rrl* spacer followed by the MseI restriction pattern. We were expecting to find a few coinfections in ticks and rodents (21, 47).

Statistical analyses. We ran a specific statistical model for each population (chipmunks, voles, and questing nymphs). For all three populations, we used a multinomial model, with the probability of being infected by every *B. burgdorferi* sensu lato species as the response variable. We separated models because each population does not host the same genospecies of *B. burgdorferi* sensu lato, and consequently, each population corresponds to a different response variable.

First, to compare the prevalence and the diversity of *B. burgdorferi* sensu lato genospecies in questing nymphs and rodents, we selected juvenile rodents. We did not use adults because, as they may have acquired infection in previous years, their infection status would not reflect the year studied (18). Thus, we hypothesized that the rates of infection of juvenile chipmunks and juvenile bank voles were comparable with the rate of infection of questing nymphs. We estimated the probability that a nymph and young rodent would be infected by *B. burgdorferi* sensu lato and by a given genospecies of *B. burgdorferi* sensu lato (null model) by the use of generalized linear models (GLM) (29) using multinomial distribution with a logit link. The logit multinomial model is statistically equivalent to a log-linear model with Poisson distribution and a log link explaining the response variable of count conditionally to the row margin (1). We then considered explanatory factor variables typically known to influence infection prevalence in populations, i.e., year and sex (full models), of young rodents and used backward model selection. We started with fitting a model with all of the variables of interest. The least significant variable, defined as the one whose significance was below 5%, was then dropped. We continued by successively refitting reduced models, applying the same rule until all of the remaining variables were statistically significant. We did not test the year of collection for nymphs because in certain years the sampling size for some *B. burgdorferi* sensu lato genospecies was low. Differences between tick and rodent infection prevalence were compared with chi-square tests.

Second, we used the same GLM with multinomial distribution to estimate infection probability for both adult and juvenile Siberian chipmunks and bank voles (null models). We considered year, age class (adults or juveniles), sex and the interaction between age and sex as explanatory variables (full model) and used backward model selection. Differences between chipmunk and vole infection prevalence were compared with chi-square tests. All analysis programs were written with R software (R Development Core Team; 2008).

RESULTS

Study population. In total, 335 Siberian chipmunks (among which were 147 juveniles) and 671 bank voles (among which were 151 juveniles) were collected. Only nine chipmunks were coinfected with *B. afzelii* and *B. burgdorferi* sensu stricto, and one was infected with *B. afzelii* and *B. garinii.* These 10 individuals were excluded from the statistical analysis.

In total, 893 questing nymphs were collected by dragging between 2006 and 2008. Of these, 745 were tested for *B. burgdorferi* sensu lato genospecies DNA, and 75 (10.1%) were found infected. In total, 25 (3.4%) nymphs were infected by *B. burgdorferi* sensu stricto, 21 (2.8%) by *B. afzelii*, 10 (1.3%) by *B. garinii*, 10 (1.3%) by *B. spielmanii*, 4 (0.5%) by *B. valaisiana*, and 3 (0.4%) by *B. lusitaniae*, and 2 nymphs (0.3%) were coinfected by *B. afzelii* and *B. burgdorferi* sensu stricto. These 2 coinfected nymphs were excluded from the statistical analysis, which thus was conducted on 743 questing nymphs.

Prevalence and diversity of *B. burgdorferi* sensu lato in young rodents and questing nymphs. We found that young chipmunks hosted three of the six *B. burgdorferi* sensu lato genospecies found in questing nymphs: *B. afzelii*, *B. burgdorferi* sensu stricto, and *B. garinii*. They were overall 2.9 times more infected (29%) than questing nymphs (10%) ($\chi^2 = 39.16$, *P* value of <0.001) (Table 1). They also were more infected than nymphs for each of the genospecies that they harbored ($\chi^2_{B.\ afzelii} = 55.08$, $P < 0.001$; $\chi^2_{B.\ burgdorferi\ \text{sensu stricto}} = 7.72$, $P = 0.005$). In contrast, young bank voles were 2.5 times less infected (4%) than questing nymphs ($\chi^2 = 4.63$, $P = 0.03$) but had a probability of being infected by *B. afzelii* similar to that of questing nymphs ($\chi^2 = 0.24$, $P = 0.62$) (Table 1). No significant factor was found when we compared the prevalence levels of *B. burgdorferi* sensu lato genospecies in young bank voles and chipmunks.

Prevalence and diversity of *B. burgdorferi* sensu lato in young and adult rodents. We found that Siberian chipmunks

TABLE 1. Estimated percentages and 95% confidence intervals for probability of being infected by *B. burgdorferi* sensu lato genospecies for questing nymphs, bank voles, and Siberian chipmunks analyzed between 2006 and 2008 in the Sénart forest[b]

Question	Host species	No.	% probability (% CI) of being infected by:				
			Total *B. burgdorferi* sensu lato	*B. afzelii*	*B. burgdorferi* sensu stricto	*B. garinii*	Others[a]
Source of infection vs young rodents	Questing nymph	743	9.8^{A} ** [2.6; 16.5]	2.8^{A} [1.8; 4.4]	3.4^{A} [2.3; 5.0]	1.3^{A} [0.7; 2.5]	2.3 [1.4; 3.7]
	Chipmunk	147	29.3^{B} [13.9; 41.9]	18.4^{B} [12.5; 27.0]	8.8^{B} [5.1; 15.4]	2.0^{A} [0.6; 6.5]	
	Vole	151	4.0^{A} [1.8; 9.0]	4.0^{A} [1.8; 9.0]			
Introduced vs native (total datum set)	Chipmunk	335	35.2^{A} [25.8; 43.5]	16.1^{A} [12.3; 21.2]	17.3 [13.3; 22.5]	1.8 [0.8; 4.1]	
	Vole	671	15.8^{B} [13.0; 19.2]	15.8^{B} [13.0; 19.2]			

[a] Others, other *B. burgdorferi* sensu lato genospecies (*Borrelia lusitaniae*, *Borrelia valaisiana*, and *Borrelia spielmanii*).
[b] Within each column and question, infection percentages that are statistically different ($P < 0.05$, χ^2 test) are shown with a different letter. CI, confidence interval.

were twice as infected (35%) as native bank voles (16%) ($\chi^2 = 47.60$, $P < 0.001$). Furthermore, they hosted two more *B. burgdorferi* sensu lato genospecies than bank voles. However, the estimated probabilities of being infected by *B. afzelii* were similar for chipmunks and voles (16%, $\chi^2 = 0.002$, $P = 0.97$) (Table 1). The probability of infection by *B. burgdorferi* sensu lato is significantly influenced by age and year for both chipmunks (age, $P = 0.017$; year, $P = 0.003$) and voles (age, $P < 0.001$; year, $P < 0.001$). Chipmunks were more infected than voles in 2007 and 2008 ($\chi^2_{2007} = 40.80$, $P < 0.001$; $\chi^2_{2008} = 46.91$, $P < 0.001$) but not in 2006 ($\chi^2_{2006} = 2.48$, $P = 0.11$) (Fig. 1). Chipmunks were less infected than voles by *B. afzelii* only in 2006 ($\chi^2 = 12.99$, $P < 0.001$) (Fig. 1). Adult rodents were more infected than juveniles ($\chi^2_{\text{chipmunk}} = 12.09$, $P < 0.001$; $\chi^2_{\text{vole}} = 7.72$, $P = 0.005$), except for chipmunks with *B. afzelii* (Fig. 2).

DISCUSSION

The mechanism by which an introduced and potential reservoir host species impacts the dynamics of a disease is unknown. We investigated whether introduced Siberian chipmunks were infected by all of the *B. burgdorferi* sensu lato genospecies associated with rodents and compared the *B. burgdorferi* sensu lato prevalence and diversity in chipmunks with that of bank voles, a known native reservoir of Lyme disease. Data on *B. burgdorferi* sensu lato prevalence and diversity in Siberian chipmunks are scarce. No studies have investigated *B. burgdorferi* sensu lato infection in the subspecies *Tamias sibiricus barberi* in Korea. Only a few studies have reported infections in China in very low numbers of *T. sibiricus* (1 in 3 chipmunks [6] and 1 in 8 chipmunks [15]). In France, Vourc'h et al. (47) have shown that chipmunks ($n = 33$) are able to carry *B. afzelii* (9 in 11 infected individuals) and *B. burgdorferi* sensu stricto (1 in 11 infected individuals).

In our study, Siberian chipmunks were infected by *B. burgdorferi* sensu lato at a rate that was nearly twice that of their source of infection, i.e., questing nymphs, and that of the bank vole, which is the most abundant native rodent and a Lyme borreliosis reservoir. Over the 3 years of the study (2006 to 2008), their infection prevalence averaged 35%, reaching 53% in 2007, which is among the highest prevalence rates found in rodents in Europe. Such a high infection prevalence has been found only in birds (23, 46) and rodents in the United States,

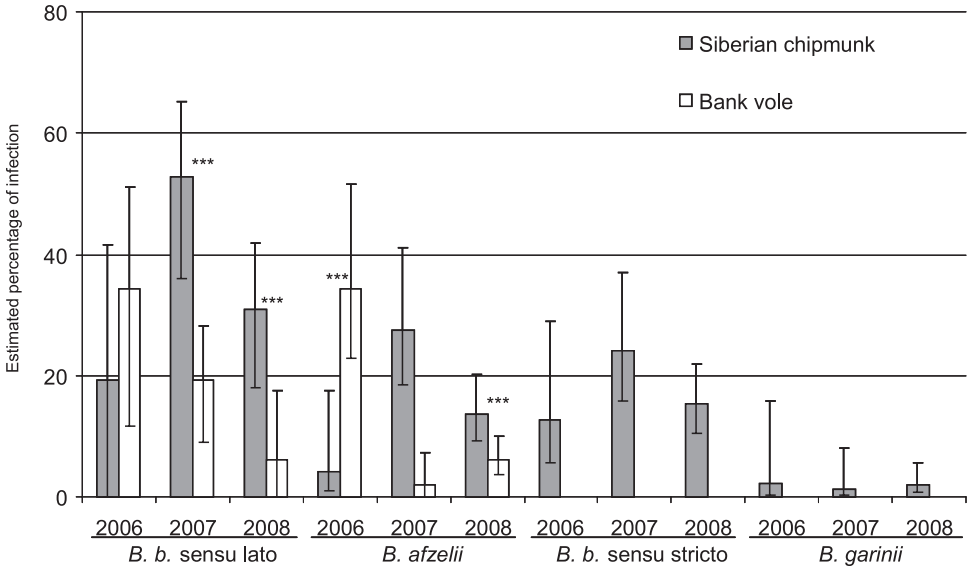


FIG. 1. Temporal variation of estimated infection percentage by *B. burgdorferi* sensu lato genospecies for Siberian chipmunks and bank voles. Significant differences ($P < 0.05$, χ^2 test) between chipmunks and bank voles within each year for *B. burgdorferi* sensu lato and *B. afzelii* are indicated with ***. Errors bars represent the 95% confidence intervals.

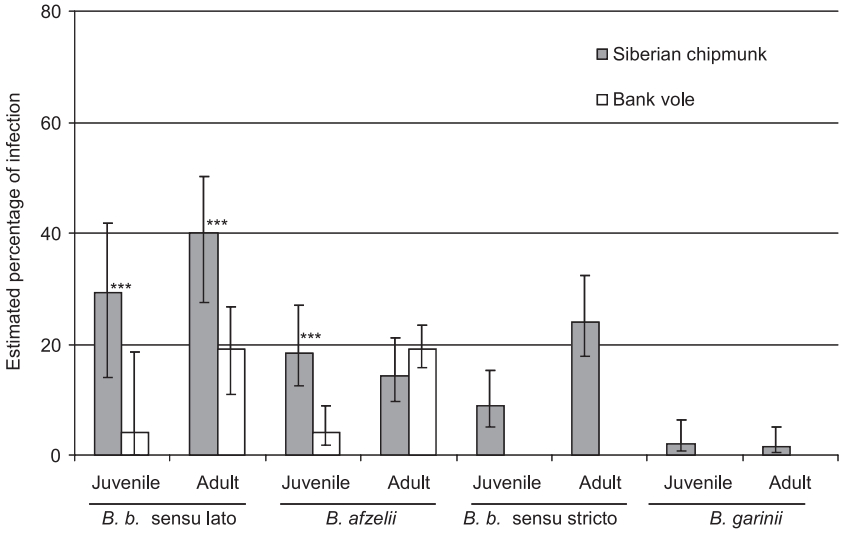


FIG. 2. Estimated infection percentage by *B. burgdorferi* sensu lato genospecies in adult and juvenile rodents. Significant differences ($P < 0.05$, χ^2 test) between Siberian chipmunks and bank voles within age class for *B. burgdorferi* sensu lato and *B. afzelii* are indicated with ***. Errors bars represent the 95% confidence intervals.

where one genospecies, *B. burgdorferi* sensu stricto, predominates (22).

As for diversity, our study showed that chipmunks were found to be infected with all three genospecies that are known to infect rodents (12), all of which also were found in questing ticks in Sénart. *B. afzelii* and *B. burgdorferi* sensu stricto both infected more than 15% of the chipmunks. The reservoir hosts for *B. burgdorferi* sensu stricto are not well known in Europe, having been reported for only a few small rodents (23, 33) and sciurids (17; A. Paulauskas, D. Arnbrasiene, J. Radzijevskaja, O. Rosef, and J. Turcinaviciene, presented at the 9th International Jena Symposium on Tick-Borne Diseases, Jena, Germany, 15 to 17 March 2007). Therefore, if they are a competent reservoir for *B. burgdorferi* sensu lato, Siberian chipmunks could play an important role in the amplification of this genospecies. Some strains of *B. garinii* (OspA serotype 4) have been isolated in rodents in Europe (14, 16). These subsequent strains were shown to belong to a new genospecies of *B. burgdorferi* sensu lato associated with rodents: *B. bavariensis*. Unfortunately, in this study we were not able to differentiate between *B. garinii* and *B. bavariensis*, so our positive *B. garinii* could be either *B. bavariensis* or a new genotype of *B. garinii* associated with rodents.

To our knowledge, such levels of infection and diversity have rarely been found in a single species at a single location in Europe. Kybicová et al. (24) did find the three rodent-associated *B. burgdorferi* sensu lato genospecies in the muscles of bank voles ($n = 24$) in the Czech Republic. At present, however, there is no evidence that *B. burgdorferi* sensu lato found in muscle can be transmitted to ticks. As ticks tend to attach themselves to ears (34), ear biopsies may be a better means to detect the *B. burgdorferi* sensu lato that can be transmitted to ticks. In Europe, moreover, rates of infection similar to ours have been found for bank voles with the same *B. burgdorferi* sensu lato genospecies (*B. afzelii*) (24; Paulauskas et al., presented). Thus, our study highlights the high prevalence and diversity of *B. burgdorferi* sensu lato genospecies in chipmunks compared to a common reservoir host of *B. burgdorferi* sensu lato in Europe.

In addition, we found that the prevalence of infection in both chipmunks and bank voles varied yearly and according to age. The temporal variation observed with chipmunks was due to the low infection prevalence of *B. afzelii* in 2006 in adults. The reason for this result is unknown. This low infection prevalence of *B. afzelii* in adults in 2006 further led to a similar infection prevalence in adult and juvenile chipmunks and in a lower infection prevalence of chipmunks compared to bank voles that year. With the exception of this genospecies, adult chipmunks were overall more infected than juveniles. Such an age-related difference in infection prevalence is commonly found in rodents (48). This result suggests that juveniles are less exposed to ticks because of a lower activity (4) and/or that chipmunks develop a cumulative infection by *B. burgdorferi* spp. over time. In other words, once infection is acquired, chipmunks may keep their infection during their lifetime, as do bank voles (18). Infection prevalence in bank voles decreased from 2006 to 2008, which may be due to an increased number of juveniles in the population.

In the case of Siberian chipmunks, two reasons could explain why they were more infected than native rodents and hosted more diverse *B. burgdorferi* sensu lato genospecies: (i) they may harbor more ticks, thereby heightening their exposure, and (ii) they may express little immunity to spirochetes. The two reasons are not exclusive. Compared to bank voles, Siberian chipmunks harbor between 6 and 12 times more ixodid nymphs (J. L. Chapuis, unpublished data), which are the source of infection for reservoir hosts. Because chipmunks are frequently infested by several nymphs (Chapuis, unpublished data), they have a high probability of getting infected, which explains why young chipmunks have a higher prevalence of infection than questing nymphs. In contrast, bank voles, which harbor less than 1 nymph per individual (39), had an infection prevalence similar to that of nymphs for the *B. burgdorferi* sensu lato genospecies that they host (*B. afzelii*). Like the closely related

Tamias striatus in the United States, which is more infested by ticks than the most important reservoir host, *Peromyscus leucopus* (42), chipmunks harbor more ticks than bank voles (39). This could be because they are larger, they use higher vegetation layers, and they may not have acquired the resistance to *I. ricinus* that bank voles have (8). Moreover, chipmunks may be sensitive to *I. ricinus*, as this vector species is not present in Korea, their area of origin (11). However, if we look at *B. afzelii*, which is the only *B. burgdorferi* sensu lato genospecies that infects both species of rodents, chipmunks were only 4 times more infected than voles, yet they were infested with considerably more nymphs (6 to 12 times). Given the extent of their exposure to nymphs, these results suggest that chipmunks are more resistant to this genospecies than voles but are less resistant to other genospecies.

The higher diversity of the *B. burgdorferi* sensu lato genospecies infecting Siberian chipmunks compared to voles could be an intrinsic characteristic of *Tamias* spp. linked either to their Korean origins or to the invasiveness of chipmunks in the Sénart forest. First, there is little evidence in the literature that *Tamias* has a higher tolerance for *B. burgdorferi* sensu lato genospecies than other rodent reservoir hosts. The few studies of Siberian chipmunks that have been conducted in their native area did not find that they were more infected or that they harbored more *B. burgdorferi* sensu lato genospecies than other indigenous rodents (6, 15). However, in North America, the previously cited *T. striatus* (30) is among the most infected rodents after *P. leucopus* (28, 44). Second, Siberian chipmunks may have a higher tolerance for this *B. burgdorferi* sensu lato genospecies because this genospecies is not present in Korea (22), rendering chipmunks naïve. Third, as an invasive species, chipmunks may allocate a greater proportion of resources to growth and reproduction for invasion success to the detriment of an investment in a costly immune response (25).

Three rodent species in the host community of the Sénart forest could influence the dynamics of Lyme borreliosis: chipmunks, bank voles, and wood mice. Wood mice appear to contribute little to the amplification of *B. burgdorferi* sensu lato in the system; they had a low infection prevalence (46) and low density (38). In the present study, we found that introduced Siberian chipmunks had a higher prevalence of *B. burgdorferi* sensu lato and hosted a greater diversity of genospecies, compared to bank voles, while the biomass densities of chipmunks and voles were similar in 2007 and 2008 in our study site (39). If chipmunks are able to transmit the infection back to ticks, i.e., if they are a competent reservoir host for *B. burgdorferi* sensu lato, we hypothesize that there is a high potential for "spillback" from chipmunks to native communities. Under this scenario, the introduced species acquires a native parasite and acts as a new reservoir of infection that increases the infection burden of the native parasite in the native host (20). An alternative hypothesis is that chipmunks are dilution hosts for *B. burgdorferi* sensu lato. This would be the case if chipmunks were "stealing" nymphs away from voles, thereby reducing the probability that voles would acquire infection by *B. burgdorferi* sensu lato, and/or if Siberian chipmunks were less efficient at transmitting *B. burgdorferi* sensu lato to ticks than bank voles. For the moment, no data are available on the reservoir competence of Siberian chipmunks. Finally, since chipmunks are more likely than voles to infect larvae with a higher diversity of *B. burgdorferi* sensu lato genospecies, they in fact may be contributing to an amplification of the *B. burgdorferi* sensu lato transmission cycle and may be increasing the risk of Lyme disease transmission to humans.

ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to the Conseil Régional d'Ile-de-France, the Office National des Forêts, and Merial for funding.

We thank the Tiques et Maladies à Tiques group of the Réseau Ecologie des Interactions Durables for discussion and support. We thank Benoît Pisanu and Julie Marmet for their help with the small rodent sampling, Sébastien Masséglia, Valérie Poux, Natacha Sertour, and Martine Garnier for their help with the molecular biology analyses, Patrick Gasqui for help with the statistic analyses, and Grace Delobel for English proofreading.

REFERENCES

1. **Aitkin, M. A., B. Francis, and J. Hinde.** 2005. Statistical modelling in GLIM. Oxford University Press, United Kingdom.
2. **Bacon, R. M., K. J. Kugeler, and P. S. Mead.** 2008. Surveillance for Lyme disease—United States, 1992-2006. MMWR Surveill. Summ. **57:**1–9.
3. **Begon, M.** 2008. Effects of host diversity on disease dynamics, p. 12–29. *In* R. S. Ostfeld, F. Keesing, and V. T. Eviner (ed.), Infectious disease ecology: the effects of ecosystems on disease and of disease on ecosystems. Princeton University Press, Princeton, NJ.
4. **Boyer, N., D. Reale, J. Marmet, B. Pisanu, and J. L. Chapuis.** 2010. Personality, space use and tick load in an introduced population of Siberian chipmunks Tamias sibiricus. J. Anim. Ecol. **79:**538–547.
5. **Chapuis, J.-L.** 2005. Distribution in France of a naturalized pet, the Siberian chipmunk (*Tamias sibiricus*). Rev. Ecol. **60:**239–253.
6. **Chu, C.-Y., et al.** 2006. Molecular epidemiological studies on *Borrelia burgdorferi* in rodents collected in the forest area of several provinces and autonomous regions of China. Chin. J. Zoonoses **22:**817–820. (In Chinese.)
7. **Daszak, P.** 2000. Emerging infectious diseases of wildlife—threats to biodiversity and human health. Science **287:**443–449.
8. **Dizij, A., and K. Kurtenbach.** 1995. *Clethrionomys glareolus* but not *Apodemus flavicollis* acquires resistance to *I. ricinus* L, the main European vector of *Borrelia burgdorferi*. Parasite Immunol. **17:**177–183.
9. **Gern, L.** 2008. Borrelia burgdorferi sensu lato, the agent of Lyme borreliosis: life in the wilds. Parasite **15:**244–247.
10. **Gern, L., et al.** 1998. European reservoir hosts of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Zentralbl. Bakteriol. **287:**196–204.
11. **Goodman, J.** 2005. Tick-borne diseases of humans, p. i-xiii, 1–401. *In* J. L. Goodman, D. T. Dennis, and D. E. Sonenshine (ed.), Tick-borne diseases of humans. ASM Press, Washington, DC.
12. **Hanincovà, K., et al.** 2003. Association of *Borrelia afzelii* with rodents in Europe. Parasitology **126:**11–20.
13. **Hanincovà, K., et al.** 2003. Association of *Borrelia garinii* and *Borrelia valaisiana* with songbirds in Slovakia. Appl. Environ. Microbiol. **69:**2825–2830.
14. **Hu, C. M., B. Wilske, V. Fingerle, Y. Lobet, and L. Gern.** 2001. Transmission of *Borrelia garinii* OspA serotype 4 to BALB/c mice by *Ixodes ricinus* ticks collected in the field. J. Clin. Microbiol. **39:**1169–1171.
15. **Huang, H.-N., et al.** 2006. Investigation on *Borrelia burgdorferi* infection in ticks and animal from a forest area of Jilin province. Chin. J. Zoonoses **22:**785–788.
16. **Huegli, D., C. M. Hu, P. F. Humair, B. Wilske, and L. Gern.** 2002. *Apodemus* species mice are reservoir hosts of Borrelia garinii OspA serotype 4 in Switzerland. J. Clin. Microbiol. **40:**4735–4737.
17. **Humair, P. F., and L. Gern.** 1998. Relationship between *Borrelia burgdorferi* sensu lato species, red squirrels (*Sciurus vulgaris*) and *Ixodes ricinus* in enzootic areas in Switzerland. Acta Tropica. **69:**213–227.
18. **Humair, P. F., O. Rais, and L. Gern.** 1999. Transmission of *Borrelia afzelii* from *Apodemus* mice and *Clethrionomys* voles to *Ixodes ricinus* ticks: differential transmission pattern and overwintering maintenance. Parasitology **118:**33–42.
19. **Jaenson, T. G. T., H. A. Mejlon, A. Hovmark, E. Asbrink, and A. Forsman.** 1989. Tick-borne *Borrelia* infection in Sweden. Fauna Flora **84:**124–129. (In Swedish.)
20. **Kelly, D. W., R. A. Paterson, C. R. Townsend, R. Poulin, and D. M. Tompkins.** 2009. Parasite spillback: a neglected concept in invasion ecology? Ecology **90:**2047–2056.
21. **Kjelland, V., S. Stuen, T. Skarpaas, and A. Slettan.** 2010. Prevalence and genotypes of *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection in *Ixodes ricinus* ticks in southern Norway. Scand. J. Infect. Dis. **42:**579–585.
22. **Kurtenbach, K., et al.** 2006. Fundamental processes in the evolutionary ecology of Lyme borreliosis. Nat. Rev. Microbiol. **4:**660–669.
23. **Kurtenbach, K., et al.** 1998. Differential transmission of the genospecies of *Borrelia burgdorferi* sensu lato by game birds and small rodents in England. Appl. Environ. Microbiol. **64:**1169–1174.

24. **Kybicová, K., Z. Kurzova, and D. Hulinska.** 2008. Molecular and serological evidence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in wild rodents in the Czech Republic. Vector Borne Zoonotic Dis. **8:**645–652.
25. **Lee, K. A., and K. C. Klasing.** 2004. A role for immunology in invasion biology. Trends Ecol. Evol. **19:**523–529.
26. **Marconi, R. T., and C. F. Garon.** 1992. Development of PCR primer sets for diagnosis of Lyme disease and for species-specific identification of Lyme disease isolates by 16S rRNA signature nucleotide analysis. J. Clin. Microbiol. **30:**2830–2834.
27. **Marmet, J., B. Pisanu, and J.-L. Chapuis.** 2009. Home range, range overlap, and site fidelity of introduced Siberian chipmunks in a suburban French forest. Eur. J. Wildl. Res. **55:**497–504.
28. **Mather, T. N., M. L. Wilson, S. I. Moore, J. M. Ribeiro, and A. Spielman.** 1989. Comparing the relative potential of rodents as reservoirs of the Lyme disease spirochete (*Borrelia burgdorferi*). Am. J. Epidemiol. **130:**143–150.
29. **McCullagh, P., and J. A. Nelder.** 1989. Generalized linear models. Chapman and Hall, London, United Kingdom.
30. **McLean, R., S. R. Ubico, and L. M. Cooksey.** 1993. Experimental infection of the Eastern chipmunk (*Tamias striatus*) with the Lyme disease spirochete (*Borrelia burgdorferi*). J. Wildl. Dis. **29:**527–532.
31. **McLeod, B.** 1932. The bionomics of *Ixodes ricinus* L., the "sheep tick" of Scotland. Parasitology **24:**382–400.
32. **MEA.** 2005. Ecosystems and human well-being: biodiversity synthesis. Island Press, Washington, DC.
33. **Michalik, J., et al.** 2005. *Borrelia burgdorferi* sensu stricto in yellow-necked mice and feeding *Ixodes ricinus* ticks in a forest habitat of west central Poland. J. Med. Entomol. **42:**850–856.
34. **Nilsson, A., and L. Lundqvist.** 1978. Host selection and movements of *Ixodes ricinus* (Acari) larvae on small mammals. Oikos **31:**313–322.
35. **Obolenskaya, E. V., et al.** 2009. Diversity of Palaearctic chipmunks (*Tamias*, Sciuridae). Mammalia **73:**281–298.
36. **Pérez-Eid, C.** 2007. Les tiques: identification, biologie, importance médicale et vétérinaire. Lavoisier, Paris, France.
37. **Piesman, J., and L. Gern.** 2004. Lyme borreliosis in Europe and North America. Parasitology **129:**S191–S220.
38. **Pisanu, B., J. Marmet, J. C. Beaucournu, and J. L. Chapuis.** 2008. Fleas community in introduced Siberian chipmunks (Tamias sibiricus Laxmann) in forest of Senart, France. Parasite **15:**35–43. (In French.)
39. **Pisanu, B., et al.** 2010. Introduced Siberian chipmunks are more heavily infested by ixodid ticks than are native bank voles in a suburban forest in France. Int. J. Parasitol. **40:**1277–1283.
40. **Postic, D., M. V. Assous, P. A. Grimont, and G. Baranton.** 1994. Diversity of *Borrelia burgdorferi* sensu lato evidenced by restriction fragment length polymorphism of rrf (5S)-rrl (23S) intergenic spacer amplicons. Int. J. Syst. Bacteriol. **44:**743–752.
41. **Prenter, J., C. MacNeil, J. T. A. Dick, and A. M. Dunn.** 2004. Roles of parasites in animal invasions. Trends Ecol. Evol. **19:**385–390.
42. **Schmidt, K. A., R. S. Ostfeld, and E. M. Schauber.** 1999. Infestation of *Peromyscus leucopus* and *Tamias striatus* by *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in relation to the abundance of hosts and parasites. J. Med. Entomol. **36:**749–757.
43. **Sinsky, R. J., and J. Piesman.** 1989. Ear punch biopsy method for detection and isolation of *Borrelia burgdorferi* from rodents. J. Clin. Microbiol. **27:** 1723–1727.
44. **Slajchert, T., U. D. Kitron, C. J. Jones, and A. Mannelli.** 1997. Role of the eastern chipmunk (*Tamias striatus*) in the epizootiology of Lyme borreliosis in northwestern Illinois, U. S. A. J. Wildl. Dis. **33:**40–46.
45. **Smith, R., and J. Takkinen.** 2006. Lyme borreliosis: Europe-wide coordinated surveillance and action needed? Euro Surveill. **11:**E060622.1.
46. **Taragel'ovà, V., et al.** 2008. Blackbirds and song thrushes constitute a key reservoir of *Borrelia garinii*, the causative agent of borreliosis in Central Europe. Appl. Environ. Microbiol. **74:**1289–1293.
47. **Vourc'h, G., J. Marmet, M. Chassagne, S. Bord, and J. L. Chapuis.** 2007. *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Siberian chipmunks (*Tamias sibiricus*) introduced in suburban forests in France. Vector Borne Zoonotic Dis. **7:**637–641.
48. **Wilson, K., et al.** 2001. Heterogeneities in macroparasite infections: patterns and processes, p. 6–44. *In* P. J. Hudson, A. Rizzoli, B. T. Grenfell, H. Heesterbeek, and A. P. Dobson (ed.), The ecology of wildlife diseases. Oxford University Press, New York, NY.

Annexe 3

Marsot M., Henry P.-Y., Vourc'h G., Gasqui P., Ferquel E., Laignel J., Grysan M., Chapuis J.-L.: "*Traits that predispose forest birds to infestation by Ixodes ricinus, the tick vector of the Lyme's disease agent*.", en préparation.

Traits that predispose forest birds to infestation by *Ixodes ricinus*, the tick vector of Lyme's disease agents.

Marsot M.[1,2], Henry P.-Y. [3], Vourc'h G[1*], Gasqui P. [1], Ferquel E. [4], Laignel J. [2], Grysan M. [2], Chapuis J.-L. [2]

[1] Institut national de la Recherche Agronomique, UR 346 Epidémiologie animale, 63122 Saint Genès Champanelle, France

[2] Muséum National d'Histoire Naturelle, Département Ecologie et gestion de la biodiversité, UMR 7204 MNHN-CNRS-P6, 61 rue Buffon, CP 53, 75005 Paris, France

[3] Muséum National d'Histoire Naturelle, Département Ecologie et Gestion de la Biodiversité, UMR 7179 MNHN-CNRS, 1 avenue du Petit Château, 91800 Brunoy, France

[4] Institut Pasteur, Centre National de Référence des Borrelia, 25-28 rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15, France

Running title: Variation factors of tick burden on forest birds

* Corresponding author

gvourch@clermont.inra.fr

Tel: +33 (0)4 73 62 47 26

Fax: +33 (0)4 73 62 45 48

Research Paper

Introduction

The increasing emergence of zoonotic vector-borne diseases in the last 15 years has drawn attention on their complex ecology and highlighted the need to improve our understanding of factors that increase contact rate between the vectors and the reservoir hosts and humans (Jones et al. 2008). Wild birds are important hosts for vector-borne pathogens in North America and Eurasia, especially those borne by ticks such as the agents of the Lyme disease *Borrelia burgdorferi* sensu lato (Ogden et al. 2008). *Ixodes ricinus* (Acari, ixodidae) is the main vector of Lyme disease in Europe. This hard tick is a generalist parasite that goes through three developmental stages (larva, nymph and male and female adults). During each stage, except adult males, the tick feeds one blood meal on a vertebrate host either to moult (larvae, nymphs) or to reproduce (Gern 2008). To encounter its hosts, *I. ricinus* quests on the tip of low vegetation at a height included between 0.1 and 1.4 m of the ground (Meljon and Jaenson 1997).

Epidemiological researches on rodents taught us that the infestation rate by Ixodid ticks is influenced by four main factors. Temporal seasonality of questing ticks on the vegetation influences the tick burden on rodents (Randolph 2004), with the highest infestation rates when tick abundance is the highest. The infestation rate of rodents varies between sex and age classes (Tälleklint and Jaenson 1997, Dorn et al. 1999), and species (Kurtenbach et al. 1995). The among-species variation in infestation rate is explained by differences in body size (Harrison et al. 2010) – bigger species host more ticks; in allocation to immune defences (Hughes and Randolph 2001) – some species may defend themselves against ticks better than others–, and in space use (Boyer et al. 2010) – the larger their home range, the more likely they are to encounter ticks.

Few studies have been conducted on the role of birds at the community level as hosts of vector-borne pathogens (Gregoire et al. 2002, Comstedt et al. 2006).

The majority of studies on bird-borne ticks focused on the role of migratory birds in disseminating tick-transmitted diseases at long distance, looking at tick infestation during the period of bird migration (Olsen et al. 1995, Comstedt et al. 2006, Dubska et al. 2009). Indeed, avian mobility and migration are potentially epizootiologic factors that increase the dissemination of vector-borne diseases (Hubalek 2004, Ogden et al. 2008, Brinkerhoff et al. 2011). But before dispersing ticks - and borne pathogens – over large distances, birds likely play a major role in the local dynamics of ticks, and associated diseases, during the reproductive period. Actually, most of tick production takes place between May and June (Gray 2002), i.e. at the same time as birds are sedentary, and settled on their reproductive territories.

When a pathogen vector can be hosted by several species within a community, how do we assess the relative role of the different species in the dynamics of the vector, and ultimately of the pathogen? To answer this question, we have to characterize the factors of variation of tick burden of birds. First, to bear ticks, you need to dwell in a habitat where you encounter ticks frequently. Actually, the very first determinant of tick load is likely to be the availability of ticks in the environment. Schmidt et al. (1999) and Dorn et al. (1999) found that the density of questing ticks are positively correlated with tick burden on rodents. Hence we predict that bird prevalence in ticks should be largely determined by questing nymph density. Second, within a community of host species, all species are not as likely to be infested. We predict that larger species likely host more ticks than small species, just because they expose larger areas of skin to ticks or cope better with parasitism than smaller individuals, as Harrison et al. suggested (2010). Third, age and sex

should influence among-individual differences in tick infestation. On the blackbird (*Turdus merula*), Gregoire et al. (2002) found that there was a significant effect of the age of the host on tick infestations, essentially due to the absence of ticks on juveniles The age effect of hosts on tick infestation may be due to the reduced time of colonization by ticks of young hosts, because of their lower activity. Tälleklint et al. (1997) found that male bank voles (*Myodes glareolus*), compared to females and older voles, compared to young voles, harboured greater numbers of *I. ricinus* ticks. For the sex effect, a lowest innate and acquired resistance to tick feeding occurs in sexually active males (Hughes and Randolph 2001). Moreover, male range over larger areas, and expose themselves more to ticks than females. Hence, we predict that tick infestation of birds should be higher for male's specimens and adults. Fourth, since questing ticks do not climb upper than 1.5 m, species spending much time close from the ground should be more infested by ticks than others. In other words, tick infestation should depend on the vertical use of the habitat per species. This hypothesis was suggested for birds (Comstedt et al. 2006), but with a very crude, qualitative categorization of the vertical use of habitats: ground-nesting versus arboreal species. Here, we provide the first quantitative test and statistical characterization of this dependency of tick infestation on the vertical use of the habitat per species, by using quantitative data on nest location and height of foraging behaviour. We predict that high nest location and/or of foraging behaviour should be associated with lower tick burden.

Hosts defend themselves against tick infestation by launching immune responses when a tick tries to settle for feeding. The innate immunity, and particularly the local inflammation response, likely contributes to deter ticks (Prosdocimi et al. 2010). The acquired immunity is also known to contribute to the protection against tick infestation (Trager 1939, Akhtar et al. 2011). Since allocation

to immune defences varies among species (Møller and Erritzoe 2002), we predict that the more a species allocates to innate and/or acquired immunity, the lower should be its tick infestation. The size of the skin swelling elicited by the injection of the mitogen phytohemagglutinin (hereafter PHA response) is interpreted as an indicator of of the strength of the inflammatory response (Martin et al. 2006), that is to say of the innate immune response. The mass of the spleen is an estimate of species-level investment in the acquired immune response (Møller et al. 2000, Møller and Erritzoe 2002). Hence, we predict that tick load should be negatively related to PHA values and to spleen mass.

Material and Methods

Study site

We conducted the study 22 km southeast of Paris in the Sénart forest (3 200 ha) and in the Notre Dame forest (2 200 ha), two oak-hornbeam forests. The study plots are essentially composed by broad-leaved trees, with the dominance of oaks (*Quercus robur*, *Q. pedunculata*) and European hornbeams (*Carpinus betulus*), locally with two additional essences, the Sweet Chesnutt (*Castanea sativa*) and the lime tree (*Tilia vulgaris*).

The avian community is composed of common forest birds, and dominated by passerines (Lustrat 2007). As part of a broader study on the vertebrate community in the Sénart forest, birds were mist-netted in 2008 at 4 plots in the Sénart forest and, in 2009, at 5 plots (including those of 2008) in the Sénart forest and 2 plots in the Notre Dame forest. A plot was a square of 16 vertical mist-nets (12m long and 2.5m high) at 50 m from each other. Mist-nest intercepted birds between 0.4 and 2.9 m from the ground. Bird sampling was conducted during the peak of activity of questing-tick

between June and July 2008 and between May and June 2009, with a frequency of one capture session (morning) per week per plot during four weeks.

Data collection

For each captured birds, we recorded the species, the body mass, the sex (male *versus* female *versus* unknown) and the age (juvenile versus adult Svensson 1992). Birds were then carefully inspected to count and collect all ticks. In 2008, the whole body of birds was systematically inspected. Ticks were at 99.7% located on the head (Nilsson and Lundqvist 1978), and only one tick was located on another part of the body (tibio-tarsus articulation). Hence, in 2009, ticks were counted on the head only. All ticks from birds were removed during inspection and placed in 70% ethanol for further identification. Questing nymphs were sampled on each plot at the same period as bird collection by dragging a 1 m^2 cotton blanket over the vegetation (McLeod 1932). Within each plot, 16 units of 10m^2 were randomly dragged. From the number of nymphs collected, we calculated the density of captured questing nymphs per 100 m^2.

Statistical analyses

Only the tick count from the first capture per bird is included in this paper, because ticks were removed while counting them. The number of ticks counted on the head of each sampled bird was analysed with Generalized Linear Models (GLM) (McCullagh and Nelder 1989) using binomial negative distribution with a log link. The analysis was done in two steps.

First, we assessed the global effects of sex, age, questing tick density, year, study plot, and bird species identity. We started with fitting a model with all the explanatory variables of interest (additive effects only). Then we used a backward

model selection approach, deleting non-significant variables ($\alpha = 0.05$) from the model. We successively re-fitted reduced models, applying the same rule, until all remaining variables were statistically significant. To test if the questing nymph density explains the variation of tick burden between study plots, we did not include the plot factor when we tested for the effect of questing nymph density. Infestation loads are reported as means, standard errors, and 95% confident intervals.

Second, we tested for relationships between species level traits and tick load: (i) body size, (ii) space use, and (iii) allocation to immune defences. (i) For body size, we used the body mass at capture for each bird, after log-transformation. (ii) Since breeding birds spend much time both in their foraging habitat and in their nesting habitat, we tested the effects of the vertical space use for each bird species in both habitats types. To achieve a quantitative characterization of their effect on tick infestation, we used one mean value per species, rather than relying on the coarse, potentially subjective categorizations used for foraging height by James et al. (2011) and Comstedt et al. (2006). Hence, explanatory variables were the mean height of foraging and the mean height of nest location per species, after log-transformation. These means were computed from guess estimates provided by 14 experienced field ornithologists (essentially licensed bird ringers), that had no knowledge of our predictions. These guess estimates were robust since the nest height values were highly correlated to estimates available in the literature (Appendix 1). (iii) The dependency of the infestation rate on species-level innate and/or acquired immune competences was tested with two literature dataset on species-level average responses to standard immune challenges. For the innate immune response, we used PHA response (extracted fromSoler et al. 2007). For the acquired immune response, we used the relative mass of the spleen. Since the spleen mass depends on the size (and therefore on the mass) of the species (Møller et al. 2000), we used the relative

size of the spleen per species (measured as residuals from a regression of log-transformed spleen mass on log-transformed body mass Møller and Erritzoe 2002). These two immune variables were log-transformed prior to analyses.

As life-history traits are correlated (Table 1), we tested each trait separately with the significant effects determined at the first step of analysis. We selected the models with the smallest AIC values as the most parsimonious models (Burnham and Anderson 1998).

All analysis programs were written with R software (R Development Core Team, 2008).

Results

Tick infestation of birds

A total of 458 birds were examined for ticks during the study (Appendix 1), comprising species mainly Passeriforme birds (445 individuals of 18 species; but also 13 woodpeckers). The most captured species were the European Robin (*Erithacus rubecula*), the Great Tit (*Parus major*), the Common Blackbird (*Turdus merula*) and the Blackcap (*Sylvia atricapilla)*, which accounted respectively for 22%, 21%, 12% and 9% of all examinations (Appendix 1). Ticks were found on 238 individuals, and a total of 2671 ticks were submitted for identification (Appendix 1). All the specimens collected were identified as larvae and nymphs of *Ixodes ricinus*. Birds hosted on average 5.8 ticks, of which 78% were larvae and 22% were nymphs. If we consider parasitized birds only, the mean load was 11.2 ticks (Figure 1).

Correlates of tick burden

Tick infestation strongly differed ($P<0.001$) among species of this forest community (Figure 1; Table 2). Birds of three genus were the most likely to carry *I.*

ricinus ticks (Table 2): *Turdus* (comprising Common Blackbird and Song Trush), the European Robin (*Erithacus rubecula*), and Hedge accentor (*Prunella modularis*). The mean tick burden could not be estimated for the species that were documented by less than 5 individuals (six species; Appendix 1).

The most influential driver of tick infestation was questing nymph density ($P<0.001$). As predicted, high bird prevalence in ticks is determined by high questing nymph density (Table 2).

Contrary to our predictions, age and sex had no global influence on tick infestation ($P=0.54$ and 0.86 respectively) as year and study plot ($P=0.60$ and 0.10 respectively).

Life-history correlates of among-species variation in tick infestation

Heavier bird species, correlated with larger species, host more ticks than small species (AIC difference = 83, slope (s.e.) = 1.03 (0.11), Figure 2).

Height of foraging behaviour and height of nest are highly correlated (Table 1), but only the first one influence tick infestation. Thus, tick infestation depends on the vertical use of the habitat per species and especially on the height of foraging behaviour (AIC difference = 6, slope (s.e.) = -0.40 (0.11), Figure 3). Bird species which have a foraging behaviour closer to the ground are more likely infested by ticks.

A high tick burden a high PHA response was associated with low tick burden (AIC difference = 11, slope (s.e.) = 1.18 (0.32), Figure 4). On the figure 4, there are two outliers, which seem to be responsible of the PHA response effect. We tested the effect of PHA response without these two individuals (Eurasian Jay), and found that PHA response remains significant (AIC difference = 3).

Discussion

Tick burden on hosts, and especially on birds, is classically found to depend on questing nymph density (Randolph 2004). Indeed, the more questing ticks for a host are available on the vegetation, the higher the probability of meeting with ticks for birds is.

Certain bird species are more likely infested by ticks than others. The Common blackbird and the Song thrush are major hosts for ticks throughout the year. In our study, they hosted the highest individual tick loads. Gregoire et al. (2002) and James et al. (2011) also found that large *Turdidae* had the highest infestation rate during the reproductive period. Dubska et al. (2009) concluded the same but on migrating individuals.

How could we predict bird species, in another bird community, which will play a major role in the local dynamics of Ixodid ticks (to be completed)?

For Gregoire et al. (2002), age class, essentially due to the absence of ticks on juveniles, but not sex class influence tick burden of the Common blackbird. With our results, the age effect seems not to be a general property for birds probably because very fast colonization of juveniles once they become independent from their parents and forage on their own.

The specificity of our study was to search for species life history traits that likely determine the encounter between different species of birds and *Ixodes ricinus*, and the respective suitability of the different species for ticks.

Birds with high body mass are more susceptible to have high infestation rates, because heavier birds are larger than other birds; their probability of meeting with ticks is higher than other birds.

James et al. (2011), Comstedt et al. (2006) and Dubska et al. (2009) showed that ground foraging birds host more ticks than arboreal species. Here we used a

quantitative measure of the height of foraging behaviour. Despite both variables are highly correlated, we identified that the height of foraging behaviour had a greater explanatory power (higher delta AIC), indicating that it is more likely that birds get infested by ticks while foraging rather than when accessing their nest.

In our study, bird species that have a high inflammatory immune response seemed to be more resistant against ticks than others. It remains that the significant, negative association with tick infestation is congruent with our prediction that species investing in a strong innate immune response would defend better against tick infestation.

If we want to understand the dynamic of a pathogen in a meta-community of hosts, composed of small rodents, birds and ungulates, we have first to characterize the dynamic of vectors between hosts in each community. For Lyme disease, the role of rodents is crucial (Mather et al. 1989, Peavey et al. 1997) but of birds too (Kurtenbach et al. 1998).

Where birds are often considered as an undifferentiated reservoir group for vector-borne pathogens, bird host competency for maintaining and transmitting these pathogens varies according to bird species (Kurtenbach et al. 1998, Taragel'ovà et al. 2008). Certain species of our study are known to be reservoir hosts of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, especially the most important hosts of ticks; the Blackbird (Humair et al. 1998) and the Song thrush (Humair et al. 1993). Moreover, the European Robin (Humair et al. 1993) and the Winter wren, two other bird species with high tick burden in our study (Olsen et al. 1995) are known to be reservoir hosts for *B. burgdorferi* sl. These four species seems to be the best contributors to Lyme disease risk for humans in the Sénart forest.

Comparison to other results in literature during the reproduction period *versus* the migration period (to be completed).

Understanding the contribution of alternative reservoirs of rodents like birds in enzootic maintenance area of *B. burgdorferi* sl is prerequisite for advancing prevention strategies for Lyme borreliosis (Tsao et al. 2004), especially in areas where hosts overlap most with humans.

B. burgdorferi sl genospecies of birds in comparison to the diversity present in questing nymphs, to show that birds have a different role in the dynamics of *B. burgdorferi* sl than rodents (to be completed).

Acknowledgments

We are grateful to the Conseil Régional d'Ile-de-France and the Office National des Forêts for funding. We thank the « Tiques et Maladies à Tiques » group of the « Réseau Ecologie des Interactions Durables » for discussion and support. We thank Clare Prosser for the bird sampling, Françoise Rieu-Lesme for her help in tick identification, Nelly Dorr for data base, Benoît Pisanu for the helpful comments on the manuscript and Grace Delobel for English proofreading.

References

Akhtar, M., F. Muhammad, L. A. Lodhi, I. Hussain, and M. I. Anwar. 2011. Immunity against Ticks-A Review. Pakistan Veterinary Journal **31**:9-16.

Boyer, N., D. Réale, J. Marmet, B. Pisanu, and J.-L. Chapuis. 2010. Personality, space use and tick load in an introduced population of Siberian chipmunks *Tamias sibiricus*. Journal of Animal Ecology **79**:538-547.

Brinkerhoff, R. J., C. M. Folsom-O'Keefe, K. Tsao, and M. A. Diuk-Wasser. 2011. Do birds affect Lyme disease risk? Range expansion of the vector-borne

309 pathogen *Borrelia burgdorferi*. Frontiers in Ecology and the Environment
310 **9**:103-110.
311 Burnham, K. P. and D. R. Anderson. 1998. Model selection and inference: A
312 practical information-theoretic approach. Springer-Verlag New York.
313 Comstedt, P., S. Bergstrom, B. Olsen, U. Garpmo, M. L., H. Mejlon, A. G. Barbour,
314 and J. Bunikis. 2006. Migratory passerine birds as reservoirs of Lyme
315 borreliosis in Europe. Emerging Infectious Diseases **12**:1087-1095.
316 Dorn, W., S. Messutat, S. Kipp, U. Sunder, A. Feldman, and C. Flugel. 1999.
317 Seasonal variation in the infestation of rodents with Ixodes ricinus (Acari:
318 Ixodidae) and prevalence of infection with Borrelia burgdorferi in a
319 recreation area. Pages 463-469 Proceedings of the 3rd International
320 Conference on Urban Pests, Czech University of Agriculture, Prague, Czech
321 Republic, 19-22 July 1999.
322 Dubska, L., I. Literak, E. Kocianova, V. Taragelova, and O. Sychra. 2009.
323 Differential Role of Passerine Birds in Distribution of Borrelia Spirochetes,
324 Based on Data from Ticks Collected from Birds during the Postbreeding
325 Migration Period in Central Europe. Applied and Environmental
326 Microbiology **75**:596-602.
327 Gern, L. 2008. Borrelia burgdorferi sensu lato, the agent of Lyme borreliosis: Life in
328 the wilds. Parasite-Journal De La Societe Francaise De Parasitologie **15**:244-
329 247.
330 Géroudet, P., editor. 1961. La vie des oiseaux. Les Passereaux et ordre apparentés.
331 Tome I : Du coucou aux corvidés. Delachaux & Niestlé, Neuchâtel,
332 Switzerland.
333 Gray, J. S. 2002. Biology of *Ixodes* species ticks in relation to tick-borne zoonoses.
334 Wiener Klinische Wochenschrift **114**:473-478.

335 Gregoire, A., B. Faivre, P. Heeb, and F. Cezilly. 2002. A comparison of infestation
336 patterns by Ixodes ticks in urban and rural populations of the Common
337 Blackbird Turdus merula. Ibis **144**:640-645.
338 Harrison, A., M. Scantlebury, and W. I. Montgomery. 2010. Body mass and sex-
339 biased parasitism in wood mice Apodemus sylvaticus. Oikos **119**:1099-1104.
340 Hoeher, S., editor. 1972. Nids et oeufs des oiseaux d'Europe centrale et occidentale
341 Delachaux & Niestlé, Neuchâtel, Switzerland.
342 Hubalek, Z. 2004. An annotated checklist of pathogenic microorganisms associated
343 with migratory birds. Journal of Wildlife Diseases **40**:639-659.
344 Hughes, V. L. and S. E. Randolph. 2001. Testosterone depresses innate and acquired
345 resistance to ticks in natural rodent hosts: A force for aggregated distributions
346 of parasites. Journal of Parasitology **87**:49-54.
347 Humair, P. F., D. Postic, R. Wallich, and G. L. 1998. An avian reservoir (*Turdus*
348 *merula*) of the Lyme borreliosis spirochetes. Zentralblatt Fur Bakteriologie-
349 International Journal of Medical Microbiology Virology Parasitology and
350 Infectious Diseases **287**:521-538.
351 Humair, P. F., N. Turrian, A. Aeschlimann, and L. Gern. 1993. *Borrelia burgdorferi*
352 in a Focus of Lyme Borreliosis - Epizootiologic Contribution of Small
353 Mammals. Folia Parasitologica **40**:65-70.
354 James, M. C., R. W. Furness, A. S. Bowman, K. J. Forbes, and L. Gilbert. 2011. The
355 importance of passerine birds as tick hosts and in the transmission of Borrelia
356 burgdorferi, the agent of Lyme disease: a case study from Scotland. Ibis
357 **153**:293-302.
358 Jones, K. E., N. G. Patel, M. A. Levy, A. Storeygard, D. Balk, J. L. Gittleman, and P.
359 Daszak. 2008. Global trends in emerging infectious diseases. Nature **451**:990-
360 993.

Kurtenbach, K., H. Kampen, A. Dizij, S. Arndt, H. M. Seitz, U. E. Schaible, and M. M. Simon. 1995. Infestation of rodents with larval *Ixodes ricinus* (Acari, Ixodidae) is an important factor in the transmission cycle of *Borrelia burgdorferi* sl in german woodlands. Journal of Medical Entomology **32**:807-817.

Kurtenbach, K., M. Peacey, S. G. T. Rijpkema, A. N. Hoodless, P. A. Nuttall, and S. E. Randolph. 1998. Differential transmission of the genospecies of *Borrelia burgdorferi* sensu lato by game birds and small rodents in England. Applied and Environmental Microbiology **64**:1169-1174.

Lustrat, J.-M. 2007. Diagnostic écologique de la Vallée de la Seine.

Martin, L. B., P. Han, J. Lewittes, J. R. Kuhlman, K. C. Klasing, and M. Wikelski. 2006. Phytohemagglutinin-induced skin swelling in birds: histological support for a classic immunoecological technique. Functional Ecology **20**:290-299.

Mather, T. N., M. L. Wilson, S. I. Moore, J. M. Ribeiro, and A. Spielman 1989. Comparing the relative potential of rodents as reservoirs of the Lyme disease spirochete (*Borrelia burgdorferi*). American Journal of Epidemiology **130**:143-150.

McCullagh, P. and J. A. Nelder. 1989. Generalized Linear Models, London.

McLeod, B. 1932. The bionomics of Ixodes ricinus L., the "sheep tick" of Scotland. Parasitology **24**:382-400.

Meljon, H. A. and T. G. T. Jaenson. 1997. Questing behaviour of *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae). Experimental and Applied Acarology **21**:747-754.

Møller, A. P. and J. Erritzoe. 2002. Coevolution of host immune defence and parasite-induced mortality: relative spleen size and mortality in altricial birds. Oikos **99**:95-100.

387 Møller, A. P., P.-Y. Henry, and J. Erritzoe. 2000. The evolution of song repertoires
388 and immune defence in birds. Proceedings of the Royal Society of London
389 Series B-Biological Sciences **267**:165-169.
390 Møller, A. P., G. Sorci, and J. Erritzoe. 1998. Sexual dimorphism in immune
391 defense. American Naturalist **152**:605-619.
392 Nilsson, A. and L. Lundqvist. 1978. Host selection and movements of *Ixodes ricinus*
393 (Acari) larvae on small mammals. Oikos **31**:313-322
394 Ogden, N. H., L. R. Lindsay, K. Hanincova, I. K. Barker, M. Bigras-Poulin, D. F.
395 Charron, A. Heagy, C. M. Francis, C. J. O'Callaghan, I. Schwartz, and R. A.
396 Thompson. 2008. Role of migratory birds in introduction and range
397 expansion of Ixodes scapularis ticks and of Borrelia burgdorferi and
398 Anaplasma phagocytophilum in Canada. Applied and Environmental
399 Microbiology **74**:1780-1790.
400 Olsen, B., T. G. T. Jaenson, and S. Bergstrom. 1995. Prevalence of *Borrelia*
401 *burgdorferi* sl-infected ticks on migrating birds. Applied and Environmental
402 Microbiology **61**:3082-3087.
403 Peavey, C., R. Lane, and J. Kleinjan. 1997. Role of small mammals in the ecology of
404 Borrelia burgdorferi in a peri-urban park in north coastal California.
405 Experimental and Applied Acarology **21**:569-584.
406 Prosdocimi, C. C., G. H. Bechara, D. J. Luduverio, F. M. S. Otavio, and R. E. Del
407 Vecchio. 2010. Innate Immunity in Wooless Lamb to Larvae of Amblyomma
408 cajennense Tick (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae). Transboundary and
409 Emerging Diseases **57**:75-76.
410 Randolph, S. E. 2004. Tick ecology: processes and patterns behind the
411 epidemiological risk posed by Ixodid ticks as vectors. Parasitology **129**:S37-
412 S66.

Schmidt, K. A., R. S. Ostfeld, and E. M. Schauber. 1999. Infestation of *Peromyscus leucopus* and *Tamias striatus* by *Ixodes scapularis* (Acari : Ixodidae) in relation to the abundance of hosts and parasites. Journal of Medical Entomology **36**:749-757.

Soler, J. J., M. Martin-Vivaldi, C. Haussy, and A. P. Møller. 2007. Intra- and interspecific relationships between nest size and immunity. Behavioral Ecology **18**:781-791.

Svensson, L. 1992. Identification guide to European Passerines, Lars Svensson, Stockholm, Sweden.

Tälleklint, L. and T. G. T. Jaenson. 1997. Infestation of mammals by *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae) in south–central Sweden. Experimental and Applied Acarology **21**:755-771.

Taragel'ovà, V., J. Koci, K. Hanincovà, K. Kurtenbach, M. Derdakova, N. H. Ogden, I. Literak, E. Kocianova, and M. Labuda. 2008. Blackbirds and song thrushes constitute a key reservoir of *Borrelia garinii*, the causative agent of Lyme Borreliosis in Central Europe. Applied and Environmental Microbiology **74**:1289-1293.

Trager, W. 1939. Acquired immunity to ticks. Jour Parasitol **25**:57-81.

Tsao, J. I., J. T. Wootton, J. Bunikis, M. G. Luna, D. Fish, and A. G. Barbour. 2004. An ecological approach to preventing human infection: Vaccinating wild mouse reservoirs intervenes in the Lyme disease cycle. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **101**:18159-18164

438 **Tables and Figures**

439 Table 1: Coefficients of correlation between life-history traits, calculated with

440 Kendall tests of correlation.

	log(body mass)	log(PHA response)	Residual log(spleen mass)	Log(height of foraging behaviour)	Log(height of nest location)
log(body mass)	-	0.25	-0.07	0.09	0.14
log(PHA response)	-	-	-0.29	-0.40	-0.40
Residual log(spleen mass)	-	-	-	0.13	0.05
Log(height of foraging behaviour)	-	-	-	-	0.81
Log(height of nest location)	-	-	-	-	-

441

442 Table 2: Estimated mean number of ticks of birds per species and per plot of collect,

443 number of birds examined (n), estimated mean number of ticks, standard error (SE)

444 and 95% confident intervals [CI].

Bird species		n	estimated mean number of ticks	SE	[CI]
European Robin	*Erithacus rubecula*	99	6.2	0.22	[4.3; 9.0]
Great Tit	*Parus major*	98	1.4	0.04	[1.0 ; 2.0]
Common Blackbird	*Turdus merula*	55	14.7	0.55	[10.1 ; 21.5]
Eurasian Blackcap	*Sylvia atricapilla*	41	0.7	0.05	[0.4 ; 1.2]
Winter Wren	*Troglodytes troglodytes*	32	3.7	0.24	[2.2 ; 6.1]
Common Chiffchaff	*Phylloscopus collybita*	28	0.1	0.04	[0.04 ; 0.4]
Common Chaffinch	*Fringilla coelebs*	14	0.7	0.18	[0.3 ; 1.9]
Marsh Tit	*Parus palustris*	14	0	-	-
Eurasian Blue Tit	*Parus caeruleus*	13	0.3	0.10	[0.1 ; 0.9]
Song thrush	*Turdus philomelos*	13	9.5	1.40	[4.5 ; 20.2]
Great Spotted Woodpecker	*Dendrocopos major*	11	0	-	-
Dunnock	*Prunella modularis*	8	5.8	1.39	[2.2 ; 15.1]
Short-toed Treecreeper	*Certhia brachydactyla*	7	0	-	-
Eurasian Nuthatch	*Sitta europaea*	7	0.1	0.14	[0.01 ; 1.0]
Questing nymphs density [number of nymphs/100m²]					
[0 ; 100]		252	1.4	0.05	[0.9 ; 2.1]
] 100 ; 300]		104	2.4	0.12	[1.6 ; 3.8]
] 300 ; 530]		102	2.7	0.14	[1.7 ; 4.2]

445

446

Figure 1: Boxplot of the number of ticks on birds and bird species

a= Certhia brachydactyla, b=Dendrocopos major, c=Erithacus rubecula, d=Fringilla coelebs, e=Garrulus glandarius, f=Parus caeruleus, g=Parus major, h=Parus palustris, i=Phoenicurus phoenicurus, j=Phylloscopus collybita, k=Picus viridis, l=Prunella modularis, m=Sitta europaea, n=Sturnus vulgaris, o=Sylvia atricapilla, p=Sylvia borin, q=Troglodytes troglodytes, r=Turdus merula, s=Turdus philomelos, t=Turdus viscivorus.

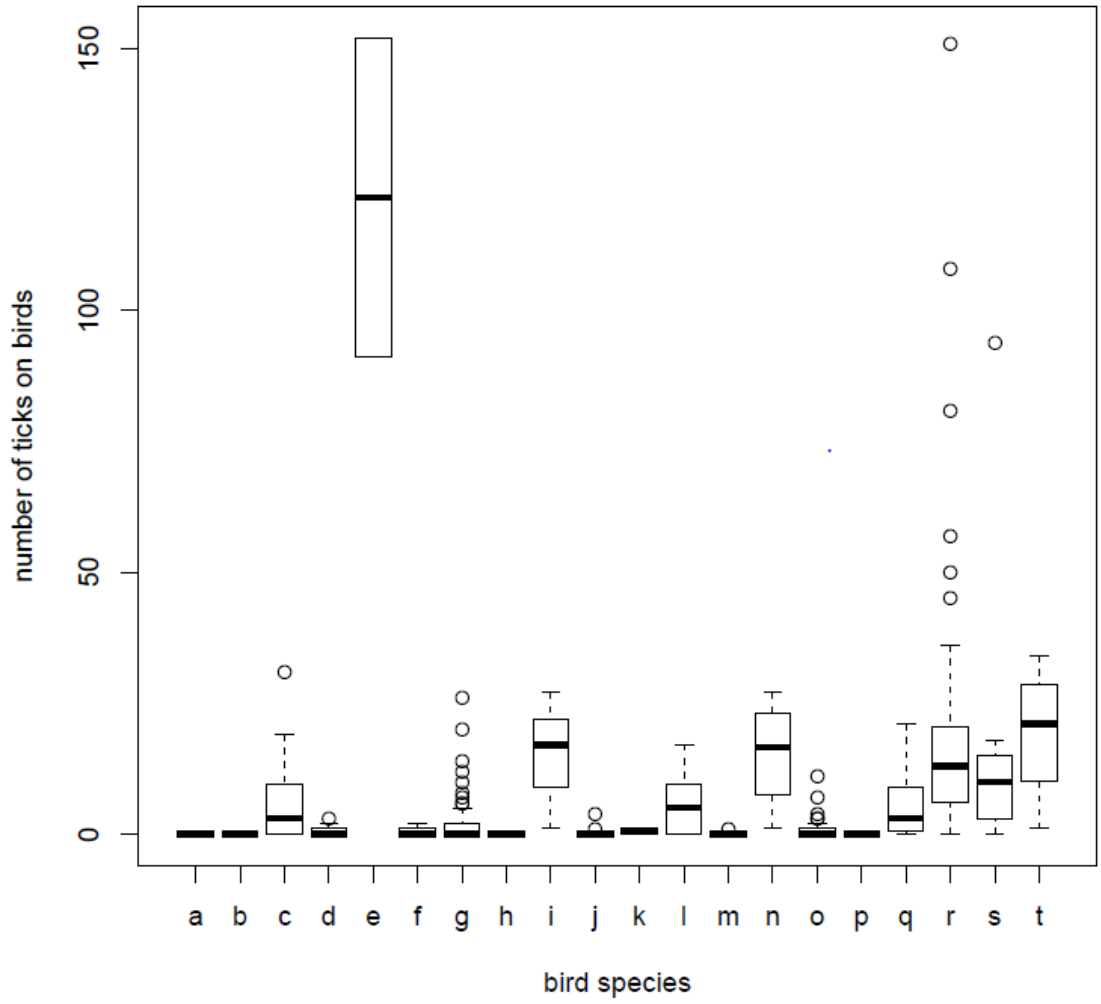


Figure 2: Relationship between the logarithm of the number of ticks on birds and the logarithm of the body mass (in g). In red, estimated regression line with the model containing the log-transformed body mass.

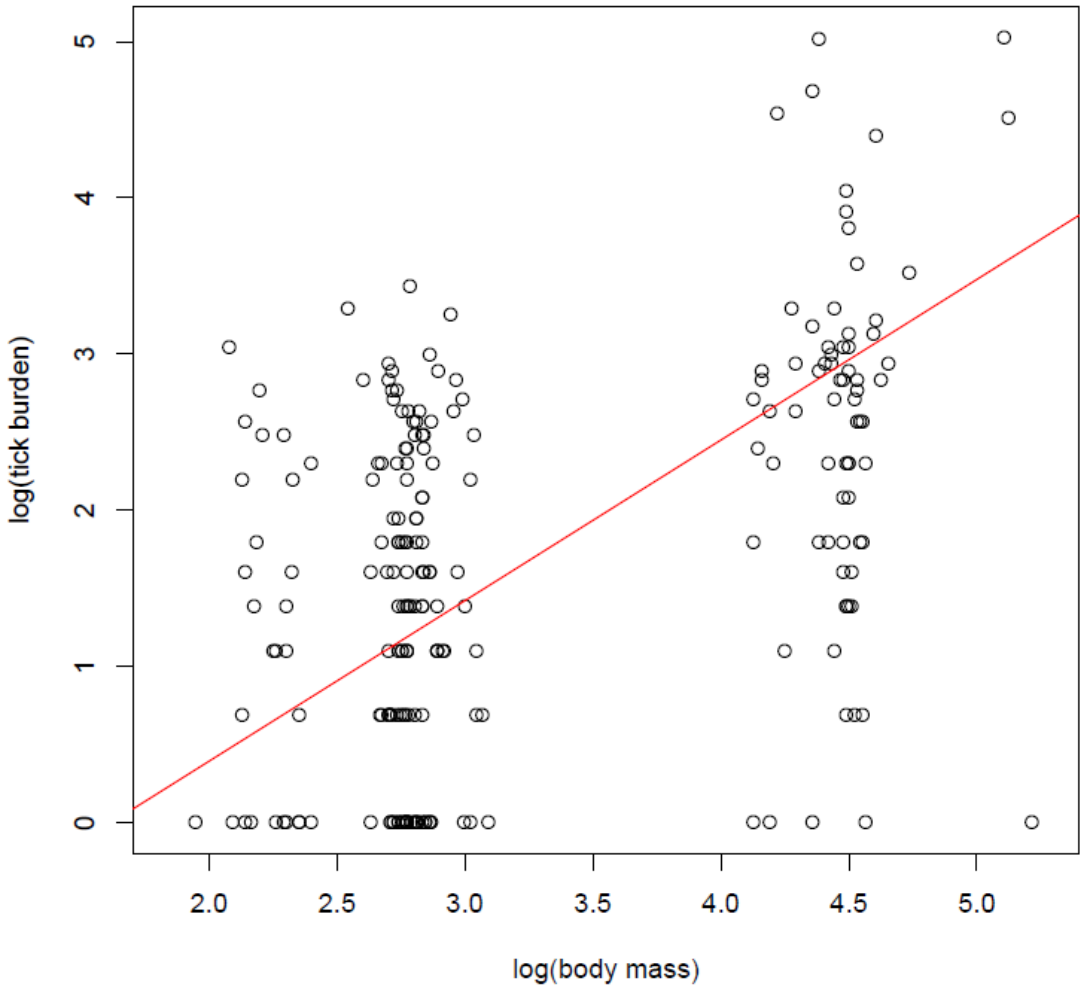


Figure 3: Relationship between the logarithm of the number of ticks on birds and the logarithm of the height of foraging behaviour (in m). In red, estimated regression line with the model containing the log-transformed height of foraging behaviour.

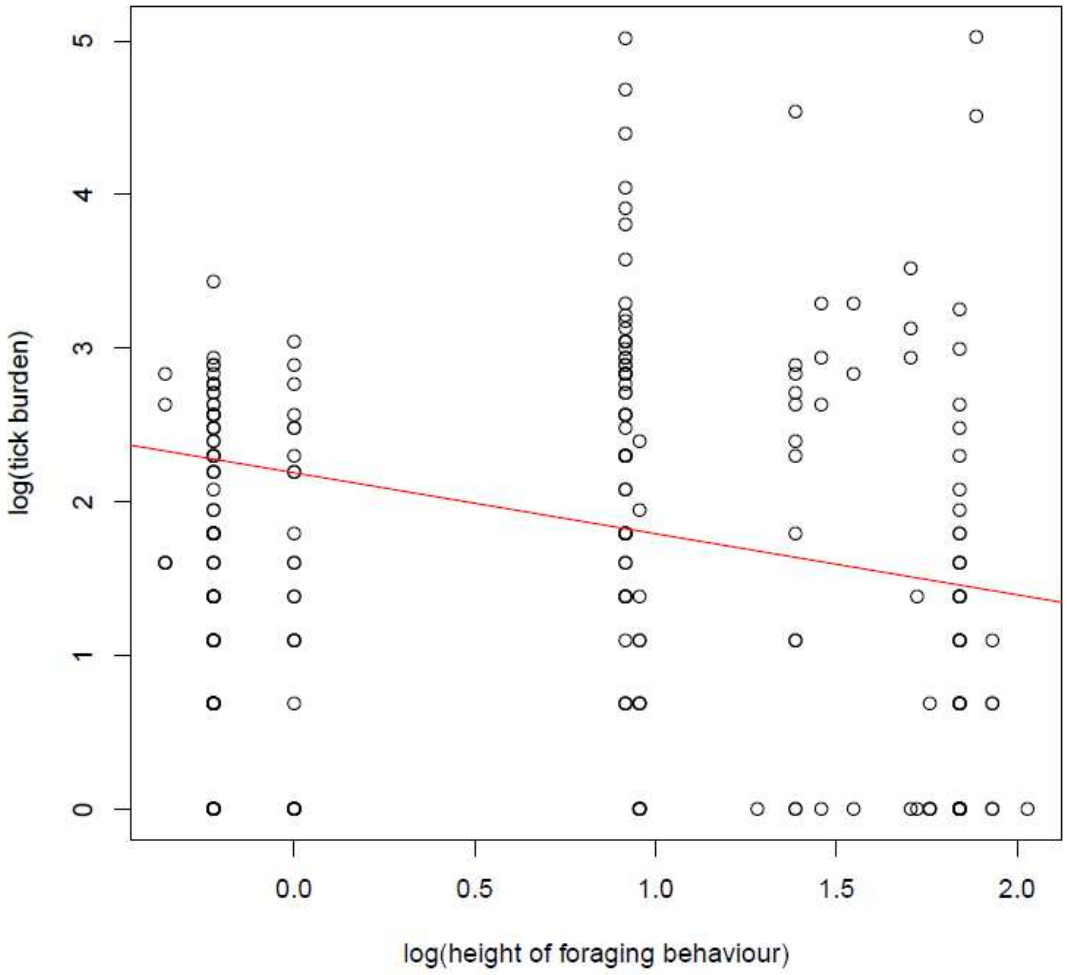
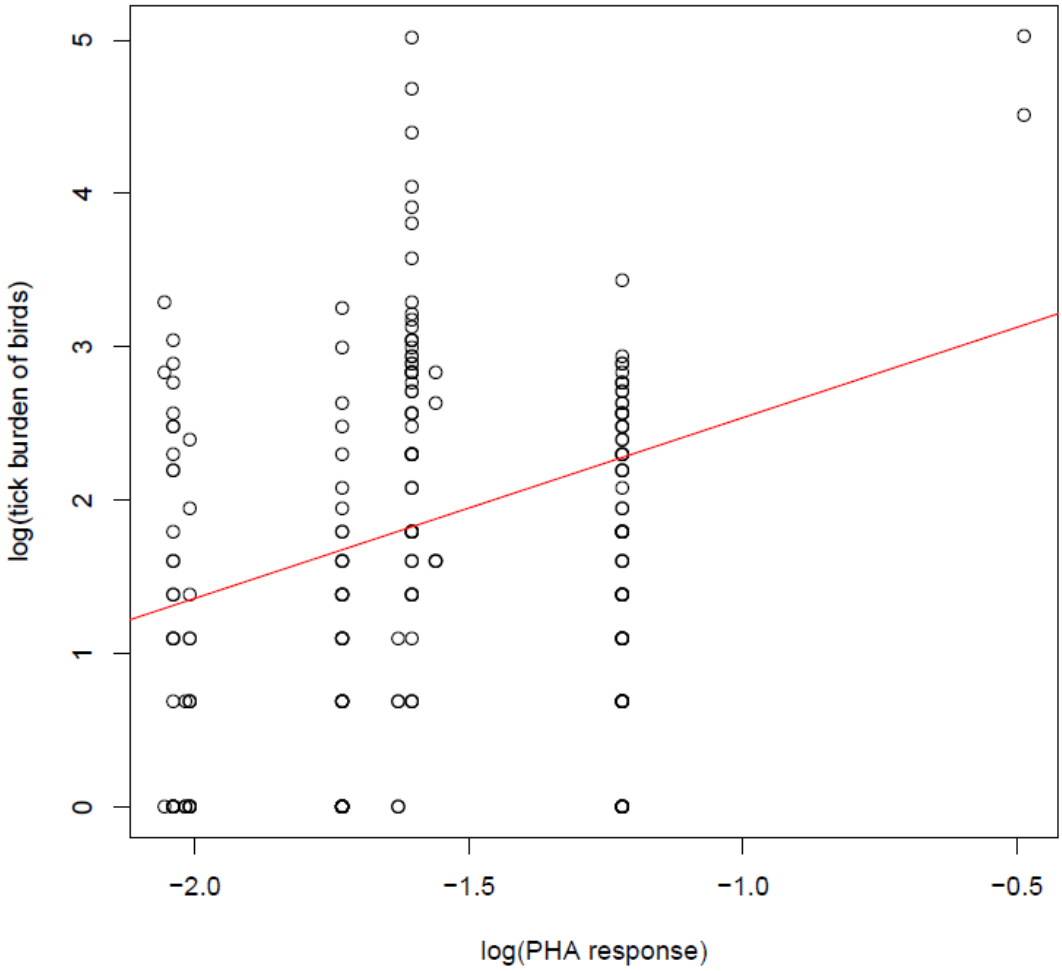


Figure 4: Relationship between the logarithm of the number of ticks on birds and the logarithm of the mean PHA response per species (in mm). In red, estimated regression line with the model containing the log-transformed PHA response.



Appendix

Appendix 1: Number of individuals collected per bird species, number of ticks *Ixodes ricinus* collected on these birds, and life-history traits of bird species.

Bird species	No. of birds examined	No. of ticks collected	Mean foraging height[1,2] (m)	Mean nest height[1,2] (m)	Mean PHA response[3] (mm)	Mean spleen mass[4] (mg)
European Robin *Erithacus rubecula*	99	532	0.8	0.8	0.295	25.5
Great Tit *Parus major*	98	173	6.3	2.8	0.177	28
Common Blackbird *Turdus merula*	55	1080	2.5	1.6	0.201	221
Blackcap *Sylvia atricapilla*	41	39	2.6	1.5	0.134	3
Winter Wren *Troglodytes troglodytes*	32	161	1.0	1.1	0.130	17
Common Chiffchaff *Phylloscopus collybita*	28	5	5.6	0.2	NA	7
Chaffinch *Fringilla coelebs*	14	9	6.9	4.4	0.196	37
Marsh Tit *Parus palustris*	14	0	6.4	3.8	NA	NA
Blue Tit *Parus caeruleus*	13	5	5.8	2.9	0.133	13
Song thrush *Turdus philomelos*	13	193	4.0	2.6	NA	124
Great Spotted Woodpecker *Dendrocopos major*	11	0	7.3	5.0	NA	48.5
Hedge accentor *Prunella modularis*	8	46	0.7	1.0	0.210	26.5
Short-toed Treecreeper *Certhia brachydactyla*	7	0	5.3	3.1	NA	12
Wood Nuthatch *Sitta europaea*	7	1	7.6	4.2	NA	24
Common starling *Sturnus vulgaris*	4	61	4.3	4.9	NA	89
Mistle thrush *Turdus viscivorus*	4	77	5.5	5.6	NA	245
Common Redstart *Phoenicurus phoenicurus*	3	45	4.7	4.7	0.128	29
Garden Warbler *Sylvia borin*	3	0	2.5	1.5	0.256	NA
Eurasian Jay *Garrulus glandarius*	2	243	6.6	5.1	0.614	18.65
Green Woodpecker *Picus viridis*	2	1	3.6	4.1	NA	88
Total	458	2671				

[1] Géroudet P. (1961), [2] Hoeher S. (1972), the correlation between the estimated values of height of foraging behaviour and height of nest location with data of literature are R^2 = 0.812 for Géroudet (1961) and R^2 = 0.783 for Hoeher (1972) ; [3] Soler et al. (2007), [4] Møller et al. (1998).

Annexe 4

Sondes des mammifères, oiseaux et reptiles utilisées pour la méthode de PCR-RLBH d'analyse de restes de repas sanguins. En rouge, sondes dessinées spécifiquement pour cette étude.

Sonde	Organismes ciblés
Artiodactyles	Bovidés, cervidés, suidés
Mammifères	Mammifères
Capreolus	*Capreolus capreolus*
Meles	*Meles meles*
Sus	*Sus scrofa*
Vulpes	*Vulpes vulpes*
Petits rongeurs	Muridés et cricétidés
Apodemus	*Apodemus sylvaticus, A. flavicollis*
Myodes	*Myodes glareolus*
Crocidura	*Crocidura sp.*
Erinaceus	*Erinaceus europaeus*
Glis	*Glis glis*
Lepus	*Lepus europaeus*
Microtus agrestis	*Microtus agrestis*
Microtus arvalis	*Microtus arvalis*
Mustela erminea	*Mustela erminea*
Micromys minutus	*Micromys minutus*
Mustela putorius	*Mustela putorius*
Mus	*Mus musculus*
Neomys anomalus	*Neomys anomalus*
Neomys	*N. anomalus, N. fodiens*
Oryctolagus cuniculus	*Oryctolagus cuniculus*
Rattus norvegicus	*Rattus norvegicus*
Rattus rattus	*Rattus rattus*
Sorex araneus	*Sorex araneus*
Sorex minutus	*Sorex minutus*
Sciurus	*Sciurus vulgaris*
Sorex sp.	*Sorex araneus, S. alpinus, S. minutus, S. coronatus*
Talpa europea	*Talpa europea*
Tamia	*Tamias sibiricus*
Lézards	Lézards
Oiseaux	Oiseaux
Erithacus	*Erithacus rubecula*
Fringilla / Pyrrhula	*Fringilla coelebs, F. montifringilla, Pyrrhula pyrrhula*
Garrulus	*Garrulus glandarius*
Parus ater	*Parus ater*
Parus	*Parus major, P. caeruleus*
Phasianus colchicus	*Phasianus colchicus*
Phylloscopus	*Phylloscopus trochilus, P. collybita, S. borin, S. communis, Aegithalos caudatus*
Phylloscopus / Sylvia	*P. trochilus, P. collybita, Sylvia atricapilla, S. borin, S. communis, A. caudatus*
Picus viridis	*Picus viridis*
Prunella	*Prunella modularis*
Sitta	*Sitta europaea*
Sylvia	*S. atricapilla*
Troglodytes	*Troglodytes troglodytes*
Turdus / Parus	*Turdus merula, T. iliacus, T. philomelos, T. pilaris, P. major, P. caeruleus*
Columba palumbus	*Columba palumbus*
Certhia brachydactila	*Certhia brachydactila*
Sturnus vulgaris	*Sturnus vulgaris*
Pica pica	*Pica pica*
Corvus corone	*Corvus corone*

Modification du risque d'une maladie multi-hôtes suite à l'introduction d'une espèce réservoir : Cas de la maladie de Lyme et du tamia de Sibérie en Ile-de-France

Résumé : La variation de la diversité des communautés d'hôtes réservoirs peut modifier le risque de maladies impliquant ces espèces. En particulier, l'introduction d'une espèce potentiellement réservoir est susceptible d'augmenter le risque de maladie, en agissant comme un réservoir supplémentaire et/ou en amplifiant la circulation des agents pathogènes chez les réservoirs autochtones. L'objectif du travail de thèse est de quantifier la contribution, d'une espèce introduite, le tamia de Sibérie (*Tamias sibiricus barberi*), au risque d'une maladie multi-hôtes, la borréliose de Lyme, due à des bactéries appartenant au complexe d'espèces *Borrelia burgdorferi* sensu lato et transmises par des tiques, principalement *Ixodes ricinus* en Europe. Dans un premier temps, nous avons testé si le tamia est un réservoir compétent pour la maladie de Lyme en milieu naturel, c'est-à-dire s'il est capable de transmettre *B. burgdorferi* sl aux tiques *I. ricinus* et de maintenir l'infection. Le tamia est fortement infesté par les tiques et infecté par les bactéries et il peut transmettre *B. burgdorferi* sl aux tiques. Nos résultats ne montrent pas clairement que le tamia peut maintenir l'infection. Une des deux composantes du risque de la maladie de Lyme pour l'homme est le risque acarologique, c'est-à-dire la densité de nymphes infectées en quête d'hôtes. Dans un deuxième temps, nous avons calculé la contribution du tamia au risque acarologique et l'avons comparé à celles du campagnol roussâtre (*Myodes glareolus*) et du mulot sylvestre (*Apodemus sylvaticus*), réservoirs avérés de *B. burgdorferi* sl. Puis, nous avons étudié la variation temporelle de la contribution du tamia et testé si sa présence influençait la contribution des réservoirs rongeurs natifs. Pour calculer la contribution au risque, nous avons utilisé deux approches, l'une basée sur des captures des rongeurs, et l'autre sur l'identification des espèces hôtes sur lesquelles se sont gorgées les tiques. Le tamia produit plus de nymphes infectées à l'affût que le campagnol et le mulot. La contribution du tamia varie entre années suivant la densité de tamias et intra-années suivant la disponibilité en tiques. Sa plus forte infestation par *I. ricinus* et infection par *B. burgdorferi* sl, que les rongeurs natifs, peuvent être expliquées par sa plus forte exposition aux tiques. En conclusion, le tamia semble un réservoir compétent pour *B. burgdorferi* sl, avec une forte contribution au risque acarologique et une amplification possible de la circulation des pathogènes dans les communautés natives. Sa présence peut augmenter le risque pour la borréliose de Lyme chez l'homme en augmentant la prévalence d'infection des nymphes, mais pas les densités de nymphes à l'affût.

Mots-clés : espèce introduite, tamia, maladie multi-hôtes, *B. burgdorferi* sl, Lyme

---

Modification of a multi-host disease risk through the introduction of a reservoir species: the case of Lyme disease and of the Siberian chipmunk in French suburban forests.

Summary: The variation of the composition of host communities can modify the risk of diseases involving these species. In particular, the introduction of a potentially reservoir species may increase the disease risk, by acting as an additional reservoir or by amplifying the circulation of pathogens in the native reservoirs. We quantified the contribution of an introduced species, the Siberian chipmunk (*Tamias sibiricus barberi*), to the risk of a multi-host vector-borne disease, Lyme borreliosis (LB), due to bacteria that belong to the *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex and transmitted by bites of hard ticks, especially by *Ixodes ricinus* ticks in Europe. First, we verified if the Siberian chipmunk is a competent reservoir host for LB in the field, by testing if chipmunks can transmit *B. burgdorferi* sl to *I. ricinus* ticks and maintain the infection. Chipmunks were highly infested by ticks and infected by *B. burgdorferi* sl, and they are able to transmit the bacteria to ticks. Our results did not show clear maintenance patterns. Second, one of the parameter of LB risk for human is the acarologic risk, which is the density of infected questing nymphs. We evaluated the contribution of chipmunks to this risk and compared it with the one of bank voles (*Myodes glareolus*) and wood mice (*Apodemus sylvaticus*), two known reservoir rodents. Moreover, we studied the variation of the contribution. We used two approaches, the one based on captures of rodents and the other one on host-blood meal analysis of questing nymphs. Chipmunks produced more infected nymphs than voles and mice. The contribution of chipmunks varies between years according to chipmunk density and during the year according to tick availability. The higher infestation by *I. ricinus* and infection by *B. burgdorferi* sl of chipmunks in comparison to native reservoir rodents, could be due to its higher exposition to ticks. As Siberian chipmunk seems to be a competent reservoir host for LB with strong contribution, they can "spillback" infection to native communities and increase the risk for LB to humans by increasing infection prevalence in nymphs, but not nymph density.

Key-words: introduced species, chipmunk, multi-host disease, *B. burgdorferi* sl, Lyme borreliosis.

Laboratoires : Institut national de la Recherche Agronomique, UR 346 Epidémiologie animale, 63122 Saint Genès Champanelle et Muséum National d'Histoire Naturelle, Département Ecologie et gestion de la biodiversité, UMR 7204 CERSP MNHN-CNRS-P6, 61 rue Buffon, CP 53, 75231 Paris Cedex 05.