

Université de Montréal

Traiter les micromammifères sauvages avec un acaricide de la famille des isoxazolines pour altérer le cycle endémique de *Borrelia burgdorferi sensu stricto*

Par

Jérôme Pelletier

Département de pathologie et microbiologie, Faculté de médecine vétérinaire

Thèse présentée à la Faculté de médecine vétérinaire
en vue de l'obtention du grade de *Philosophiae doctor* (Ph. D.)
en sciences vétérinaires, option épidémiologie

Juillet 2023

© Jérôme Pelletier, 2023

Université de Montréal

Département de pathologie et microbiologie, Faculté de médecine vétérinaire

Cette thèse intitulée

Traiter les micromammifères sauvages avec un acaricide de la famille des isoxazolines pour altérer le cycle endémique de *Borrelia burgdorferi sensu stricto*

Présenté par

Jérôme Pelletier

A été évaluée par un jury composé des personnes suivantes

André Ravel

Président-rapporteur

Patrick Leighton

Directeur de recherche

Catherine Bouchard

Codirectrice

Jean-Philippe Rocheleau

Codirecteur

Simon Dufour

Membre du jury

Manisha Kulkarni

Examineur externe

Résumé

Les réservoirs de *Borrelia burgdorferi* jouent un rôle clé pour assurer sa transmission dans l'environnement. Récemment, de nouveaux acaricides, comme le fluralaner, présentant une efficacité élevée contre les tiques et une longue durée d'action, ont été commercialisés sur le marché des médicaments vétérinaires. Cibler les réservoirs de *B. burgdorferi*, comme les souris du genre *Peromyscus*, avec le fluralaner permettrait : d'abord, d'en altérer le cycle endémique; ensuite, de réduire la densité de tiques infectées dans l'environnement ; et, ultimement, de réduire le risque de transmission de la maladie de Lyme (ML).

En premier lieu, l'efficacité du fluralaner à tuer des larves de l'espèce *Ixodes scapularis* infestant des souris du genre *Peromyscus* a été démontrée en laboratoire. Lors d'infestations expérimentales, des doses de 12,5 et 50 mg/kg ont tué > 90 % des larves d'*I. scapularis* dans les 4 jours suivant l'administration du traitement. Cependant, cette efficacité a été réduite à moins de 5 % dans les 30 premiers jours.

En second lieu, dans le cadre d'une étude contrôlée non randomisée, des appâts de fluralaner ont été administrés répétitivement à une population de micromammifères sauvages à des densités de 2,1 ou 4,4 appâts/1000 m² pendant 3 à 4 ans. L'efficacité du traitement à réduire l'infestation des micromammifères a, au préalable, été évaluée. Les densités de 2,1 et 4,4 ont respectivement réduit de 68 % et 86 % le nombre de larves infestant les souris du genre *Peromyscus*. Seule la densité de 4,4 a réduit significativement le nombre de nymphes de 72 %. Après quoi, l'effet des deux densités d'appâts sur le cycle endémique de *B. burgdorferi* a été évalué par le biais de 3 paramètres : 1- la prévalence de *Peromyscus* spp. infectées (PIM), 2- la

densité de nymphes en quête (DON), 3- la prévalence de nymphes infectées par *B. burgdorferi* (NIP). La prévalence d'infection des souris par *B. burgdorferi* a chuté de 60 à 37 % après deux années de déploiements du traitement. Le traitement a provoqué une réduction de la DON de 45 à 63 % dans les zones traitées. Aucun effet n'a été observé sur le dernier paramètre.

En troisième lieu, la pharmacologie du fluralaner a été caractérisée chez des souris du genre *Peromyscus* dans une étude réalisée en laboratoire. Les données recueillies ont été utilisées pour simuler et interpréter différents scénarios de traitement de souris *Peromyscus* spp. pour une durée équivalente aux pics d'activités des larves et des nymphes d'*I. scapularis*. Les simulations ont permis d'identifier un jeu de scénarios qui conféreraient une protection contre les tiques pendant toute la saison d'activité des stades immatures d'*I. scapularis*. L'étude de la pharmacologie des acaricides chez les espèces ciblées et la modélisation de la pharmacocinétique représentent des étapes cruciales pour développer ce type d'intervention.

Cette thèse a permis d'entreprendre le développement d'une approche ciblant les réservoirs de *B. burgdorferi* en utilisant une molécule de la famille des isoxazolines. L'approche décrite a montré le potentiel d'altérer le cycle endémique de *B. burgdorferi* et de réduire la densité de nymphes infectées dans l'environnement. Plus généralement, en intégrant des études sur la pharmacologie du fluralaner en laboratoire et des études terrains, elle permet d'initier la réflexion quant à l'importance d'avoir un cadre de développement commun pour structurer la recherche autour de ce type d'approches.

Mots-clés : Maladie de Lyme, isoxazolines, fluralaner, micromammifères, *Ixodes scapularis*, *Peromyscus* spp., pharmacologie, réservoirs, hôtes, *Borrelia burgdorferi*.

Abstract

Reservoirs of *Borrelia burgdorferi* play a key role in ensuring its transmission in the environment. Recently, new acaricides, such as fluralaner, with high efficacy against ticks and a long duration of action have been commercialized in the veterinary drug market. Targeting *B. burgdorferi* reservoirs, such as *Peromyscus* spp. mice, with fluralaner would yield the following benefits: first, alter its transmission in the environment; second, reduce the density of *B. burgdorferi*-infected ticks in the environment; and, ultimately, reduce the risk of Lyme disease (LD).

Firstly, the efficacy of fluralaner for killing *Ixodes scapularis* larvae infesting *Peromyscus* mice was demonstrated in a laboratory setting. Doses of 12.5 and 50 mg/kg showed > 90% efficacy at killing *I. scapularis* larvae infesting *Peromyscus* spp. mice within 4 days of treatment during experimental infestations. However, efficacy was reduced to less than 5% beyond 30 days.

Secondly, in a non-randomized controlled study, fluralaner baits were repeatedly administered to a wild population of small mammals at densities of 2.1 or 4.4 baits/1000m² over a period of 3 to 4 years. First, the treatment's efficacy at reducing small mammal infestation was evaluated. Densities of 2.1 and 4.4 baits/1000m² reduced the number of larvae infesting *Peromyscus* mice by 68% and 86% respectively. Only the density of 4.4 baits/1000m² significantly reduced the number of nymphs by 72%. Next, the effect of the both bait densities on the *B. burgdorferi* endemic cycle was evaluated through 3 parameters: i- the prevalence of *B. burgdorferi*-infected *Peromyscus* spp. mice (PIM), ii- the density of questing nymphs (DON), and iii- the prevalence of *B. burgdorferi* in questing nymphs (NIP). Mouse infection by *B. burgdorferi* decreased from 60 to

37% following two years of treatment deployment. The treatment reduced the DON by 45-63% in the treated areas but no effect was observed on *B. burgdorferi* prevalence in the NIP.

Thirdly, fluralaner pharmacology was characterized in *Peromyscus* mice in a laboratory setting. The data collected were used to simulate and interpret different treatment scenarios for *Peromyscus* mice over a period corresponding to the peak activities of *I. scapularis* larvae and nymphs. The simulations identified a set of treatment scenarios that confer protection against ticks for an entire season of *I. scapularis* activity. The results indicate that investigation of acaricide pharmacology in target species and pharmacokinetic modeling are critical steps in the development of this type of intervention.

This thesis initiated the development of an approach targeting *B. burgdorferi* reservoirs using a molecule of the isoxazoline family. This approach showed potential for disrupting the endemic cycle of *B. burgdorferi* and reducing the density of *B. burgdorferi*-infected nymphs in the environment. More broadly, by integrating studies on fluralaner pharmacology in laboratory and field settings, this work has initiated a reflection on the importance of establishing a general development framework to structure research around this type of approach.

Keywords: Lyme disease, isoxazolines, fluralaner, small mammals, *Ixodes scapularis*, *Peromyscus* spp. pharmacology, reservoirs, hosts, *Borrelia burgdorferi*.

Table des matières

Résumé.....	3
Abstract.....	5
Table des matières.....	7
Liste des tableaux.....	12
Liste des figures.....	15
Liste des sigles et abréviations.....	17
Remerciements.....	21
Introduction.....	23
Émergence des maladies vectorielles.....	23
Émergence de la maladie de Lyme aux États-Unis et au Canada.....	24
Risque et prévention de la maladie de Lyme.....	25
Recension des écrits.....	28
Écologie de la maladie de Lyme.....	29
Pathogènes.....	29
La tique <i>Ixodes scapularis</i>	34
Le cycle endémique de <i>Borrelia burgdorferi</i>	40
La maladie de Lyme chez les humains.....	51
Symptomatologie.....	51
Pathogénécité.....	53
Incidence et distribution en Amérique du Nord.....	54
Fardeau.....	56
Facteurs de risque.....	58
Prévention et contrôle du risque.....	63
Prévention secondaire.....	63

Prévention primaire	65
Les acaricides.....	80
Les différentes familles	80
Les isoxazolines	81
Hypothèse et objectif	92
Hypothèse générale	92
Objectifs spécifiques	93
Chapitre 1 - Evaluation of fluralaner as an oral acaricide to reduce tick infestation in a wild rodent reservoir of Lyme disease.....	95
Abstract	96
Background.....	98
Methods	100
Animals	100
Experimental design	100
Infestations.....	101
Statistical models	102
Efficacy assessment.....	103
Concentration of fluralaner in blood	103
Results	105
Animals and bait consumption.....	105
Attached larvae (Model 1)	105
Mortality proportion (Model 3)	106
Attached living larvae (Model 2) and efficacy.....	106
Concentration of fluralaner in blood	107
Discussion	107
Conclusion	111
References.....	113

Figures	121
Tables	124
Chapitre 2 - Fluralaner baits reduce the infestation of <i>Peromyscus</i> spp. mice by <i>Ixodes scapularis</i> larvae and nymphs in a natural environment.....	126
Abstract	127
Introduction.....	128
Material and methods.....	131
Experimental site.....	131
Treatment.....	132
Small mammal sampling	133
Density of questing ticks	134
Statistical analysis.....	135
Ethics approval	137
Results	138
Treatment.....	138
Small mammal sampling	138
<i>Peromyscus</i> mice	138
Model selection and effect of the treatment	139
Discussion	140
References.....	146
Figures	160
Tables	163
Chapitre 3 - The effect of fluralaner treatment of small mammals on the endemic cycle of <i>Borrelia burgdorferi</i> in a natural environment	167
Abstract	168
Introduction.....	169

Materials and methods	173
Field activities	173
Sample testing	175
Statistical analyses	176
Results	178
Discussion	181
Conclusion	186
References	187
Figures	197
Tables	200
Chapitre 4 - Pharmacological studies and pharmacokinetic modeling to support the development of interventions targeting ecological reservoirs of Lyme disease	204
Abstract	205
Main	206
Results	207
Pharmacokinetic	207
Efficacy	208
Toxicology	209
Simulations	210
Discussion	210
Methods	216
Animals	216
Treatment administration and follow-up period	216
Infestation, larva count and anesthesia	217
Blood samples	218
Determination of fluralaner blood concentration	219

Clinical and anatomical pathology	220
Data analysis.....	220
References.....	223
Figures	229
Tables	234
Extended data	236
Discussion générale.....	242
Les déterminants de l'efficacité des interventions	243
Les déterminants opérationnels	244
Les déterminants écologiques	247
L'importance d'un cadre de développement.....	250
Phase expérimentale préterrain	251
Phase expérimentale terrain.....	254
Phase interventionnelle	256
De l'expérimentation à l'intervention.....	258
Perspectives	260
Conclusion	264
Références bibliographiques.....	265
Annexes	336
Annexe 1.....	336
Annexe 2.....	339
Annexe 3.....	342
Annexe 4.....	343

Liste des tableaux

Tableau 1.	Les espèces composant le complexe <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato ainsi que vecteurs et les réservoirs leur étant associé.....	47
Tableau 2.	Les espèces et groupes d'espèces vertébrés hôtes de la tique <i>Ixodes scapularis</i>	49
Tableau 3.	Phases et manifestations cliniques de la maladie de Lyme	61
Tableau 4.	Les mesures de prévention individuelle et d'aménagement paysager	75
Tableau 5.	Synthèse des études ciblant les cerfs avec des acaricides et de leur effet significatif sur les populations de tique <i>I. scapularis</i>	76
Tableau 6.	Synthèse des études ciblant les micromammifères et de leur effet significatif sur les populations de tique <i>I. scapularis</i>	77
Tableau 7.	L'effet des différentes approches visant à réduire la densité de tiques infectées par <i>B. burgdorferi</i> dans l'environnement	79
Tableau 8.	Les familles d'acarides par cible et mécanisme d'action	87
Tableau 9.	La rapidité et la durée d'effet des isoxazoles contre différentes espèces de tique après l'administration d'une unique dose.....	89
Tableau 10.	La demi-vie terminale des isoxazoles utilisées dans des produits commerciaux selon l'espèce et le mode d'action.....	91
Tableau 11.	Liste des objectifs spécifiques et chapitres correspondants.....	94
Table 12.	Number of attached larvae on mice 48 hours post-infestation for each experimental group at Day 2, Day 28 and Day 45 after treatment administration.....	124

Table 13.	Fluralaner dose efficacy at Day 2, Day 28 and Day 45 after treatment administration	125
Table 14.	Total number of captured small mammals, and abundance of larvae and nymphs infesting four groups of small mammals	163
Table 15.	Descriptive data of <i>I. scapularis</i> tick infestation of <i>Peromyscus</i> mice, aggregated by zone and density of baits.....	164
Table 16.	Negative binomial regression model of the number of feeding larvae per mouse (model 1a)	165
Table 17.	Negative binomial regression model of the number of feeding nymphs per mouse (model 2a)	166
Table 18.	Prevalence of <i>B. burgdorferi</i> -infected mice per zone and period of capture.....	200
Table 19.	Estimates (β) from the binomial GLMM built to investigate the relation between the treatment and mouse infection by <i>B. burgdorferi</i>	201
Table 20.	The density of nymphs and the prevalence of infected nymphs per year	202
Table 21.	Estimates (β) of the negative binomial GLMM built to investigation the association between the density of nymphs and the treatment	203
Table 22.	Estimates (β) of the binomial GLMM built to investigation the association between the prevalence of <i>B. burgdorferi</i> -infected nymphs and the treatment.....	203
Table 23.	Summary of experimental groups and their distribution between experiments.	234
Table 24.	Pharmacological parameters by experimental group	235
Table I.	Comparison of compartment model fit with experimental profiles.....	236

Table II.	Counts of <i>I. scapularis</i> larvae and ratios of larval count between groups Pexx-2 (fluralaner 250 mg/kg) and Pexx-3 (placebo), by time since treatment administration.....	237
Table III.	Mean weights of animals and principal organs (SD) for each group included in the toxicology experiment	239
Table IV.	Comparison between mean values (range) of biochemistry parameters of groups CD1-4 and CD1-6 and mean normal values (CI95) of CD1 M. musculus mice of the same age	240
Table V.	Micro-constants computed from compartment model fitted with pharmacokinetic profile of group CD1-1 and Pexx-1.....	241
Supplementary Table 1.	Small mammal sampling effort by year and by zone	336
Supplementary Table 2.	Descriptive data of <i>I. scapularis</i> tick infestation of <i>Peromyscus</i> mice aggregated by zone and period of capture	337
Supplementary Table 3.	Comparison of competitive models for the number of immature ticks per mouse	338
Table P1.	Amplification conditions of the 23S-rRNA PCR reaction	340
Table P2.	Amplification conditions of the OspA qPCR reaction	340
Supplementary Table 4.	Results of univariate test between covariates and mouse infection by <i>B. burgdorferi</i>	342
Supplementary Table 5.	Results of univariate test between covariates and the density of nymphs	342
Supplementary Table 6.	Results of univariate test between covariates and the prevalence of <i>B. burgdorferi</i> -infected nymphs	342

Liste des figures

Figure 1. Schématisation du risque de développer la maladie de Lyme chez l'humain.	27
Figure 2. Schéma du cycle de transmission de <i>Borrelia burgdorferi</i> dans l'est de l'Amérique du Nord.	46
Figure 3. Mean number of attached larvae 12, 24 and 48 h following infestation carried out 2 days after administration of fluralaner treatment.	121
Figure 4. Effect of fluralaner treatment 48 h following infestations carried out at Day 2, 28 and 45 post-treatment.	123
Figure 5. Location of the study site in northeastern North America and in southern Québec, Canada, and the location of plots within the study site.	160
Figure 6. Boxplots of the number of feeding larvae (A) and feeding nymphs (B) per captured <i>Peromyscus</i> mouse by zone, year and period of capture.	161
Figure 7. Percent reduction of larvae and nymphs infesting <i>Peromyscus</i> mice (± 1 CI95).....	162
Figure 8. The effect of the cumulate treatment on mouse infection by <i>B. burgdorferi</i>	197
Figure 9. The effect of cumulative treatment on the density of questing nymphs (DON).....	198
Figure 10. The effect of the cumulate treatment density on nymph infection by <i>B. burgdorferi</i>	199
Figure 11. Pharmacokinetic profile of groups CD1-1 (a) and Pexx-1 (b).....	229
Figure 12. Pharmacokinetic profiles of groups CD1-2 (a), CD1-3 (b) and Pexx-2 (c), and the percent reduction in the number of counted attached living larvae in Pexx-2 (d).	230
Figure 13. Maximum interval between doses that allows fluralaner C_p to stay over 196 ng/mL (solid line) or 119 ng/mL (dashed line) in CD1 (a) and Pexx mice (b).	231

Figure 14. Schematic representation of different scenarios of treatment of Pexx mice with fluralaner.232

Figure 15. Schéma du cadre de développement des interventions visant à réduire la densité de tiques infectées par *Borrelia burgdorferi* et leurs principales caractéristiques.263

Liste des sigles et abréviations

°C : degré Celsius

23S-rRNA : sous unité 23S de l'ARN ribosomique

ADN-DNA : acide désoxyribonucléique-*desoxyribonucleic acid*

AIC : *Akaike's information criterion*

ASPC-PHAC : Agence de la santé publique du Canada-*Public Health Agency of Canada*

CBD : *cumulative bait density*

CDC : *Center for Disease Control and Prevention*

CI95 : *95% confidence interval*

CI99 : *99% confidence interval*

C_{max} : C_p maximale atteinte

C_p : Concentration plasmatique-*plasma concentration*

CVMP : *Committee for Veterinary Medicinal Products*

DALY : *Disability-adjusted life year*

DIN : densité de nymphes infectées par *B. burgdorferi*

DIT : densité de tiques infectées par *B. burgdorferi*

Dpb : *Decorin-binding protein*

DON : densité de nymphes en quête

DON-R : réduction de la densité de nymphes en quête

DOT : densité de tiques en quête

EIA : *Enzyme immunoassay*

FDA : *Food and Drug Administration*

FL : larve prenant son repas sur un hôte

FN : nymphe prenant son repas sur un hôte

FT : tique prenant son repas sur un hôte

GABACIR : *γ-aminobutyric acid-gated chloride channels receptor*

GLM : *generalized linear model*

GLMM : *generalized linear mixed model*

GluCIR : *Glutamate-gated chloride channels receptor*

INSPQ : Institut nationale de santé publique du Québec

ISDLP : *Ixodes scapularis dystroglycan-like protein*

Isac : *Ixodes scapularis salivary anticomplement*

LRT : *log-likelihood ratio test*

ML-LD : maladie de Lyme-*Lyme disease*

MSSS : Ministère de la santé et des services sociaux du Québec

NIP : prévalence de nymphes infectées par *B. burgdorferi*

NSERC : *Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada*

OMS : Organisation mondiale de la santé

Osp : *Outer surface protein*

OR : *odds ratio*

PCR : *polymerase chain reaction*

Pexx : *Peromyscus leucopus*

PIM : prévalence de souris *Peromyscus* spp. infectées par *B. burgdorferi*

PK : pharmacocinétique

QUALY : *Quality-adjusted life year*

RD : *relative density*

R_L : ratio de larves attachées

RLS : Réseau local de service

R_T : R_L au temps T

Salp : *Salivary protein*

SD : *Standard deviation*

SE: *Standard error*

sl : *sensu lato*

t_{1/2} : demi-vie

tHRF : *Tick histamine release factor*

TIP : prévalence de tiques infectées par *B. burgdorferi*

Tix : *Tick inhibitor of factor Xa*

T_{max} : temps pour atteindre la C_{max}

TM : *trade mark*

TROSPA : *Tick Receptor for Osp A*

USA : *United-States of America*

USD : *US dollars*

VIF : *variance inflation factor*

Vls : *VMP-like proteins*

[...] il n'y a point d'entreprise plus difficile à conduire, plus incertaine quant au succès, et plus dangereuse que celle d'introduire de nouvelles institutions. Celui qui s'y engage a pour ennemi tous ceux qui profitaient des anciennes, et il ne trouve que de tièdes défenseurs pour qui les nouvelles institutions seraient utiles. Cette tièdeur, au reste leur vient de deux causes : la première est la peur qu'ils ont de leurs adversaires, lesquels ont en leur faveur les lois existantes; la seconde est l'incrédulité commune à tous les hommes, qui ne veulent croire en la bonté des choses nouvelles que lorsqu'ils en ont été bien convaincus par l'expérience.

Le Prince : L'art du pouvoir, Nicolas Machiavel

C'est justement pour préserver ce qui est neuf et révolutionnaire dans chaque enfant que l'éducation doit être conservatrice, c'est-à-dire assurer « la continuité du monde ».

La Responsabilité, Hannah Arendt

La tâche primordiale d'un professeur capable est d'apprendre à ses élèves à reconnaître qu'il y a des faits inconfortables, j'entends par là des faits qui sont désagréables à l'opinion personnelle d'un individu; en effet il existe des faits extrêmement désagréables pour chaque opinion, y compris la mienne.

« Le métier et la vocation de savant » dans Le savant et la politique, Max Weber

Remerciements

Je tiens d'abord à remercier ma famille : mes parents, Alain et Marise, dont le soutien tout au long de mon parcours académique a pavé la voie au succès ; ma belle-famille, Benoît et Sandra, dont la présence lors de mes multiples et (trop) brefs passages à Rivière-du-Loup m'a permis de garder un ancrage nécessaire dans la vie réelle ; mes nièces, Olivia et Alexie, qui ont grandi au moins à la même vitesse que les idées colligées dans ce document.

Ensuite, mes remerciements vont à mon triumvirat de direction : Patrick, Jean-Philippe et Catherine. Patrick, qui n'est jamais à court d'idées et d'hypothèses, aura à lui seul incarné l'idée que l'imagination est plus importante que les connaissances. La rigueur de Jean-Philippe m'aura permis de devenir un bien meilleur chercheur que je n'aurais pu l'espérer. Catherine est un phare d'humanité dans les dédales du milieu académique. Nos discussions auront fait et continueront de faire de moi un meilleur être humain. J'aimerais également souligner l'important soutien de Cécile et Francis qui ont grandement contribué à l'amélioration de cette thèse.

J'aimerais remercier spécialement certains collègues qui auront su enrichir mon parcours académique : Camille dont la vision du monde et de la recherche me donne le goût de continuer ; Ludivine qui représente à mes yeux le plus beau mélange d'authenticité et de compétence ; Antoine avec qui les discussions m'auront fait redécouvrir ma passion pour la philosophie en plus de me rendre meilleur chaque fois. Des remerciements à tous mes collègues qui ont croisé mon chemin et que je ne peux remercier plus personnellement pour des raisons

de parcimonie : Nikky, Katrina, Sarah, Natasha et bien d'autres qui m'échappent au moment d'écrire ces lignes.

Mon doctorat fut également une aventure maskoutaine. J'y ai rencontré des personnes extraordinaires. Un merci spécial à Marijo Demers, ma candidate à la mairie de Saint-Hyacinthe, avec qui les discussions politiques ou autres ne cessent d'enrichir mon monde.

Enfin, je tiens à souligner les soutiens financiers et techniques de la communauté du GREZOSP, de l'Université de Montréal, de l'Agence de la santé publique du Canada, l'Institut national de santé publique du Québec et du Centre de recherche en sciences naturelles et génie du Canada.

Introduction

Émergence des maladies vectorielles

L'émergence des maladies infectieuses représente une problématique de santé dont l'impact sur les populations humaines s'intensifie. Au cours du siècle dernier, la fréquence à laquelle un agent infectieux s'est transmis pour la première fois d'un réservoir animal vers les populations humaines a connu une augmentation (Jones et coll. 2008). La proportion de ces événements causés par des agents pathogènes d'origine zoonotique en provenance de réservoirs sauvages est croissante (Jones et coll. 2008). Les agents infectieux transmis par le biais de vecteurs arthropodes comme les tiques et les moustiques sont réputés plus à risque d'émerger (Taylor & Woolhouse 2001). Ce phénomène est attribuable à un ensemble de facteurs dont les principaux sont de natures écologiques, comme l'augmentation des voyages internationaux et la mondialisation des échanges commerciaux, et climatiques (Semenza et coll. 2016). L'augmentation globale des températures due à l'émission de gaz à effet de serre et son impact local sur des paramètres météorologiques et microclimatiques, comme l'humidité relative atmosphérique et les patrons de précipitations, font partie des facteurs climatiques ayant un impact sur l'émergence des maladies infectieuses (Ogden & Lindsay 2016).

Les maladies transmises par des vecteurs arthropodes sont réputées sensibles au climat et, conséquemment, leur épidémiologie est affectée par les changements climatiques (Jones et coll. 2008, Ogden 2017, Ogden et coll. 2022). L'augmentation de la température favorise par exemple l'expansion géographique de différentes espèces de moustiques, notamment *Aedes aegypti* et *Ae. albopictus*, des vecteurs des virus de la dengue et Chikungunya (Robert et coll.

2020). La réplication des virus dans les moustiques est, en plus, habituellement favorisée par des températures plus élevées (Chan & Johansson 2012, Xiao et coll. 2014). Il en résulte une augmentation globale du fardeau sur la santé publique de ces différentes maladies vectorielles (Robert et coll. 2020). La maladie de Lyme (ML) est causée par le complexe d'espèces *Borrelia burgdorferi sensu lato (sl)* et transmise par les tiques du genre *Ixodes*. Son émergence aux États-Unis et au Canada est un autre exemple d'agent infectieux dont l'épidémiologie est affectée par les changements climatiques (Piesman & Gern 2004, Ogden 2017, Leighton et coll. 2022, Ogden et coll. 2022).

Émergence de la maladie de Lyme aux États-Unis et au Canada

En Amérique du Nord, la ML est majoritairement causée par la bactérie *Borrelia burgdorferi sensu stricto* (ci-après *B. burgdorferi*) (Steere et coll. 1983). Dans le centre et le nord-est du continent, *B. burgdorferi* est transmise par la tique *Ixodes scapularis* (Burgdorfer et coll. 1982). La perturbation des habitats par l'exploitation agricole du territoire suivi par une période de reboisement et l'élimination de prédateurs importants pour les hôtes de la tique *I. scapularis* semblent être à l'origine de ce phénomène d'émergence ou plutôt de réémergence (Kilpatrick et coll. 2017). Dans un second temps, la ML a connu une progression géographique vers le Nord jusqu'en territoire canadien. Ce phénomène semble, pour sa part, directement en lien avec une augmentation des températures due aux changements climatiques (Ogden et coll. 2009, Bouchard et coll. 2015).

Désormais, la ML est considérée comme endémique dans plusieurs régions du sud du Canada. Toutefois, ce phénomène d'émergence est appelé à se poursuivre dans les prochaines années avec pour conséquence l'augmentation de la transmission de la ML et l'augmentation de la

population à risque de transmission (Leighton et coll. 2012, Bouchard et coll. 2019). Avec la perspective d'un fardeau croissant, cette maladie s'impose donc comme une problématique de santé publique majeure pour les populations canadiennes nécessitant le développement de nouveaux outils qui permettraient d'en réduire le risque.

Risque et prévention de la maladie de Lyme

La ML est transmise par la piqûre d'une tique *I. scapularis* infectée par *B. burgdorferi* (Figure 1A). Pour ce faire, il faut être exposé ou s'exposer à un environnement dans lequel se situent des tiques infectées. Pour transmettre l'infection, une tique doit se nourrir pendant >24-36h (Figure 1B) (Piesman 1993, Sood et coll. 1997, des Vignes et coll. 2001, Piesman & Dolan 2002). Les mesures visant à réduire l'exposition aux tiques infectées et la transmission de l'infection font partie des mesures de préventions primaires. La prévention primaire consiste à prévenir l'apparition de la maladie (Kisling & Das 2022). Une fois infecté, le développement de la ML dépend de la vulnérabilité de l'humain à l'infection et de la virulence de la souche de bactérie infectante (Figure 1C) (Seinost et coll. 1999, Iliopoulou & Huber 2010). Les mesures visant à empêcher le développement de la maladie suivant l'infection font partie des mesures de prévention secondaire. La prévention secondaire concerne la détection rapide d'une infection ou d'une maladie (Kisling & Das 2022).

Dans leur revue de littérature, Eisen & Eisen (2012) identifie quatre grandes stratégies de prévention primaire contre la ML : 1- réduire la densité de tique *I. scapularis* en quête dans l'environnement (DOT¹), 2- diminuer la prévalence de tiques *I. scapularis* infectées par *B.*

¹ Abréviation de *Density of questing ticks*

burgdorferi (TIP²), 3- modifier le comportement humain pour réduire l'exposition aux tiques infectées ou la transmission de l'agent pathogène, et 4- prévenir l'infection par la vaccination. Les stratégies 1 et 2 visent toutes deux à réduire la densité de tiques *I. scapularis* infectées en quête (DIT³) dans l'environnement. La DIT est un déterminant important du risque de ML ce qui en fait une cible importante de prévention primaire (Steere & Malawista 1979, Mather coll. 1996, Kitron & Kazmierczak 1997, Pepin et coll. 2012). Les approches préventives ciblant la DIT repose sur l'hypothèse que sa réduction réduirait la fréquence de piqûre par des tiques infectées ce qui, conséquemment, réduirait le risque de développer la ML. En conséquence, l'objectif général de cette thèse est de développer une approche qui réduirait la DIT.

² Abréviation de *Prevalence of infected ticks*

³ Abréviation de *Density of infected ticks*

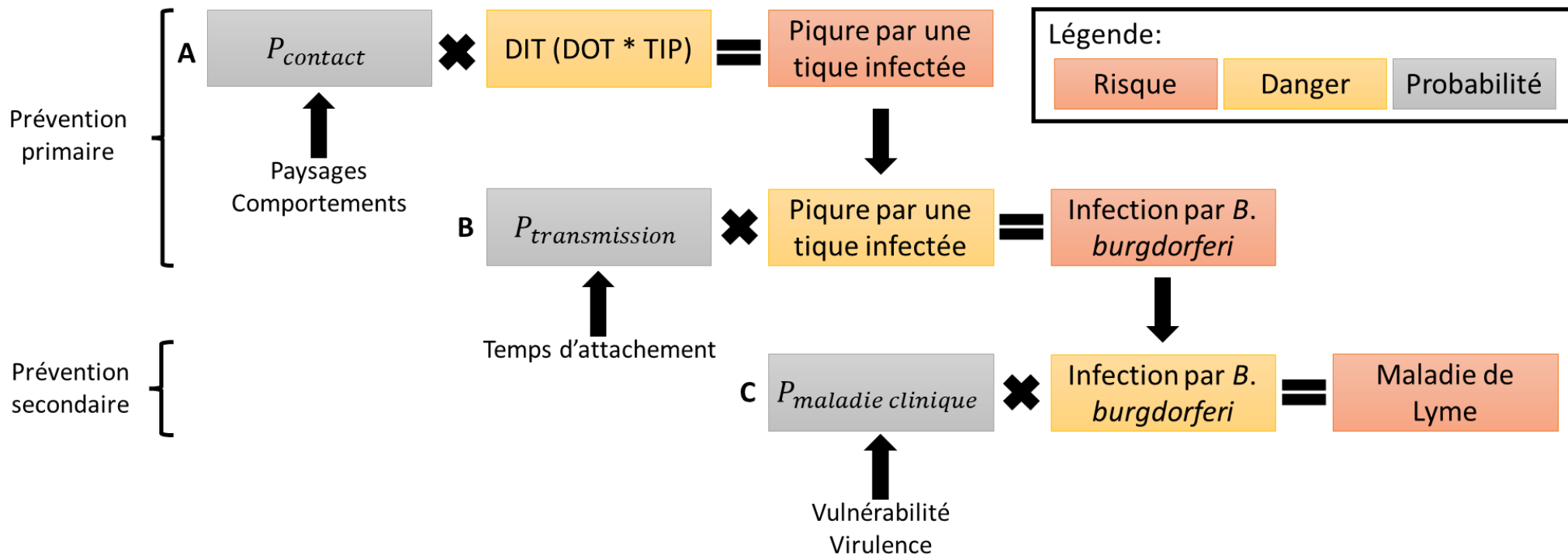


Figure 1. Schématisation du risque de développer la maladie de Lyme chez l'humain. Le panel A schématise le risque d'être piqué par une tique infectée par *B. burgdorferi*. Ce risque est dépendant de la DIT et de la probabilité d'y être exposé. La DIT est le produit de la DOT et TIP. Cette probabilité de contact entre une tique infectée et un humain ($P_{contact}$) est influencée par des déterminants associés aux paysages et aux comportements humains. Le panel B présente le risque d'être infectée par *B. burgdorferi*. La probabilité de transmission ($P_{transmission}$) de l'infection lorsque piqué par une tique infectée est associée au temps pendant lequel la tique est attachée. Le panel C illustre le risque de développer la ML. La probabilité d'être malade ($P_{maladie\ clinique}$) si infecté dépend de facteurs associés à l'humain infecté (vulnérabilité) et aux caractéristiques de la lignée bactérienne infectante (virulence).

Recension des écrits

Cette recension des écrits se concentre d'abord sur l'écologie de la ML et sur son épidémiologie chez les humains. Ces deux premiers éléments visent à mettre le développement d'une approche ciblant les réservoirs de *B. burgdorferi* dans son contexte écoépidémiologique. En ce sens, la portion décrivant l'écologie de la maladie aborde plus en détail le cycle de transmission de *B. burgdorferi* dans l'est de l'Amérique du Nord. La section dédiée à l'épidémiologie de la ML chez les humains vise à mettre en évidence le fardeau qu'elle occasionne sur la santé publique. Elle décrit plus précisément l'incidence des cas en Amérique du Nord, c.-à-d. le contexte géographique dans lequel l'intervention développée dans cette thèse se situe. Ensuite, cette recension se concentre sur la prévention de la ML. Cette section a pour objectif de décrire l'ensemble des approches utilisées en prévention primaire et secondaire. Cette section se termine sur une description des avantages et des inconvénients des approches ciblant les tiques infectées dans l'environnement étant donné qu'il s'agit d'un déterminant important du risque. Enfin, la dernière section présente une brève description des familles d'acaricide pour évoluer vers une description plus détaillée de la pharmacologie des isoxazolines. Le développement récent de cette famille d'acaricides sur le marché des médicaments vétérinaires ajoute un nouvel outil permettant de revisiter certaines approches ciblant les hôtes d'*I. scapularis* et les réservoirs de *B. burgdorferi*.

Écologie de la maladie de Lyme

Pathogènes

Classification et génétique

Les bactéries du genre *Borrelia* (Spirochaetales : Spirochaetaceae) ont en commun d'être transmises par des arthropodes hématophages (Barbour & Hayes 1986). Les borrelies associées à la ML sont plus spécifiquement comprises dans le complexe d'espèces nommé *Borrelia burgdorferi* *s.l.* comprenant, à ce jour, 22 espèces confirmées ou proposées (Tableau 1) (Margos et coll. 2011, Mannelli et coll. 2012, Pritt et coll. 2016b, Margos et coll. 2017, Margos et coll. 2020). Les bactéries comprises dans ce groupe se distinguent génétiquement du groupe de borrelies associées à la fièvre récurrente, *B. recurrentis* *s.l.* (Fukunaga et coll. 1996b). Le groupe *B. recurrentis* *s.l.* comprend, sans s'y limiter, les espèces *B. lonestari*, *B. myamotoi* et *B. recurrentis* (Barbour & Hayes 1986, Fukunaga et coll. 1996b).

Le génome de *B. burgdorferi* *s.l.*, séquencé à partir de la souche B31, comprend un chromosome linéaire de 910 725 paires de bases et 21 plasmides (9 circulaires et 12 linéaires) comprenant plus de 613 000 paires de bases (Casjens et coll. 1997, Fraser et coll. 1997, Wang et coll. 1999a). Ce génome se démarque par sa proportion plus élevée, 8 %, de séquences codant pour des lipoprotéines lorsqu'on le compare au génome d'autres bactéries (Fraser et coll. 1997). Le grand nombre et l'ubiquité des plasmides signifient qu'ils contiennent des gènes nécessaires au développement des bactéries de ce groupe (Casjens et coll. 1997). Ils codent notamment les séquences nécessaires à la synthèse des lipoprotéines de la membrane externe (Osp⁴) comme

⁴ Abréviation de *Outer surface protein*

Osp A, Osp B (Barbour & Garon 1988), Osp C (Marconi et coll. 1993, Sadziene et coll. 1993) et Osp D (Fraser et coll. 1997).

Les fonctions des lipoprotéines Osp A et Osp C sont identifiées comme critique pour le cycle de vie de *B. burgdorferi* *sl*. Ces deux protéines ont, à ce titre, fait l'objet de beaucoup de recherche visant à caractériser les populations de *B. burgdorferi* *sl* en Amérique du Nord et en Europe que ce soit par sérotypage ou par l'analyse des séquences de leur gène respectif (Wang et coll. 1999a). La protéine Osp C, exprimée lorsque les bactéries colonisent ses hôtes vertébrés, montre une plus grande variabilité génétique qu'Osp A ce qui serait le résultat d'une pression évolutive visant à échapper à l'immunité adaptative de ces espèces (Wilske et coll. 1993, Will et coll. 1995, Wang et coll. 1999b, Baranton et coll. 2001). Inversement, Osp A est exprimée durant la colonisation de l'intestin des tiques (Pal et coll. 2000). La pression de sélection sur le gène codant pour cette protéine ne vient donc que de l'adaptation à cet environnement (Baranton et coll. 2001).

Distribution géographique

La distribution mondiale des différentes espèces de *B. burgdorferi* *sl* est hétérogène (Kurtenbach et coll. 2006, Margos et coll. 2011). En tout, huit espèces n'ont été identifiées qu'en Amérique du Nord, cinq uniquement en Asie et quatre uniquement en Europe. L'aire de répartition de trois espèces s'étend sur l'ensemble du supercontinent eurasiatique alors que deux espèces sont présentes à la fois en Amérique du Nord et Europe. Une espèce, *B. garinii*, possède une aire de répartition s'étendant, en plus de l'Eurasie, aux territoires côtiers de l'Amérique du Nord (Smith et coll. 2006, Munro et coll. 2019). Elle pourrait également être

présente sur les côtes de l'Antarctique (Tableau 1) (Kurtenbach et coll. 2006, Margos et coll. 2011).

Initialement associé à *B. burgdorferi*, les espèces *B. afzelii* et *B. garinii* ont été identifiées pour la première fois au début des années 90 à partir d'isolats de patients humains pour la première et de tiques pour la seconde (Baranton et coll. 1992, Canica et coll. 1993). L'espèce *B. afzelii* se répartit sur l'ensemble du continent eurasiatique, c.-à-d. de l'Europe de l'Ouest jusqu'au Japon (Baranton et coll. 1992, Postic et coll. 1997, Masuzawa 2004, Hao et coll. 2011). Une aire de répartition qu'elle partage avec les espèces *B. bavariensis* et *B. valaisiana* (Masuzawa 2004, Hao et coll. 2011, Margos et coll. 2013). Une étude récente a identifié l'ADN de *B. bavariensis* dans certaines tiques de la côte atlantique au Canada suggérant que cette espèce pourrait posséder une distribution similaire à *B. garinii* (Munro et coll. 2019).

En Eurasie, certaines espèces occuperaient des aires de répartition plus limitées. Ce serait notamment le cas de l'espèce *B. lusitanae* dont l'aire de répartition se concentrerait dans le bassin méditerranéen bien qu'elle ait été identifiée en Tchéquie et en Pologne (Wodecka & Skotarczak 2005, Grego et coll. 2007, Margos et coll. 2011, Musilová et coll. 2022). En Asie, les espèces *B. japonica* (Japon), *B. sinica* (Chine), *B. tanukii* (Japon), *B. turdi* (Japon) et *B. yangtze* (Chine) auraient des aires de répartition plus limitées (Fukunaga et coll. 1996a, Masuzawa et coll. 2001, Chu et coll. 2008).

Les espèces *B. bissettii* et *B. burgdorferi* sont réparties à la fois en Amérique du Nord et en Eurasie (Margos et coll. 2011). La première a été identifiée dans certains états de l'Est (Lin et coll. 2003, Oliver et coll. 2003, Clark 2004, Clark et coll. 2005, Maggi et coll. 2010), du centre

(Burkot et coll. 2000, Picken & Picken 2000, Schneider et coll. 2000, Caporale et coll. 2005) et de l'Ouest (Postic et coll. 1998, Vredevoe et coll. 2004, Eisen et coll. 2009) des États-Unis de même que dans certains pays d'Europe centrale et de l'Est (Picken et coll. 1996, Fingerle et coll. 2008, Rudenko et coll. 2009b). Elle aurait également été identifiée dans des tiques échantillonnées dans la province canadienne du Nouveau-Brunswick (Lewis & Lloyd 2019). La seconde, en Europe, se trouve principalement dans les pays de l'Ouest (Kurtenbach et coll. 2006, Margos et coll. 2011).

Borrelia burgdorferi est la première espèce du complexe *B. burgdorferi* *sl* identifiée à partir d'isolats de patients états-uniens atteints de la ML et de tiques (Burgdorfer et coll. 1982, Johnson et coll. 1984). Jusque dans les années 90, il était communément reconnu qu'il s'agissait de la seule espèce du complexe *B. burgdorferi* *sl* en Amérique du Nord. Les différentes lignées isolées montraient toutefois une hétérogénéité génétique suffisante pour y identifier des espèces à part entière (Marconi et coll. 1995). D'abord, les espèces *B. americana*, *B. andersoni*, *B. bissettii*, *B. californiensis*, *B. carolinensis*, *B. kurtenbachii* et *B. spielmanii* ont été identifiées entre 1995 et 2010 (Tableau 1). Ensuite, depuis 2016, trois nouvelles espèces se sont ajoutés : *B. maritima*, *B. mayonii* et *B. lanei* (Tableau 1). Sur ce continent, l'espèce *B. burgdorferi* reste la plus répandue, et celle dont l'aire de répartition est la plus étendue et la mieux définie. Elle se trouve dans le Sud du Canada et aux États-Unis; à la fois sur la côte ouest, dans les territoires centraux et sur la côte est (Kurtenbach et coll. 2006, Margos et coll. 2011). Inversement, les espèces *B. andersoni* (côté est), *B. californiensis* (côte ouest), *B. carolinensis* (sud-est), *B. mayonii* (Midwest) et *B. kurtenbachii* (Midwest) n'ont, à ce jour, été identifiées qu'à l'intérieur d'aires de répartition plus limitée (Margos et coll. 2011, Fleshman et coll. 2021, Fleshman et

coll. 2022). Récemment, une tique échantillonnée en Europe a été identifiée comme porteuse de l'espèce *B. carolinensis* suggérant que cette espèce pourrait également être répartie en Europe (Cotté et coll. 2010).

Vecteurs et réservoirs

Les espèces du complexe *B. burgdorferi* *sl* ont des capacités différentes d'infecter certaines espèces de tiques du genre *Ixodes* ou certaines espèces de vertébrés nommées réservoirs (Tableau 1). La distribution géographique des borrélioses est donc dépendante de la distribution des vecteurs *Ixodes* spp. et des réservoirs qu'elles infectent. La distribution de l'espèce *B. garinii*, et celle de *B. bavariensis*, dans certains habitats côtiers en Amérique du Nord est notamment expliqué par le fait qu'elle est maintenue par un cycle de transmission impliquant certaines espèces d'oiseaux marins et la tique *I. uriae* (Kurtenbach et coll. 2006, Margos et coll. 2011). En Europe, il est rapporté que *B. afzelii*, *B. garinii* et *B. lusitaniae* infectent plus spécifiquement certaines espèces de rongeurs, d'oiseaux et de lézards, respectivement (Wolcott et coll. 2021).

En Amérique du Nord, *B. burgdorferi* est réputé avoir la capacité d'infecter une diversité d'espèces de vertébrés (Tableau 1). Malgré tout, ses principaux réservoirs sont des micromammifères et des oiseaux terrestres, principalement des oiseaux qui nichent au sol (Piesman & Gern 2004, Wolcott et coll. 2021, Dumas et coll. 2022). Dans le centre et l'est du continent, la présence de *B. burgdorferi* dans l'environnement est fortement associée à certaines espèces de micromammifères comme les souris du genre *Peromyscus*, c.-à-d. les souris à pattes blanches, *P. leucopus*, et les souris sylvestres, *P. maniculatus* (Levine et coll. 1985, Donahue et coll. 1987, Mather et coll. 1989, Rand et coll. 1993, Bouchard et coll. 2013).

Elle a également été identifiée chez les tamias rayés, *Tamias striatus*, certaines espèces de campagnols et les musaraignes (Mather et coll. 1989, Telford et coll. 1990, Slajchert et coll. 1997).

La tique *Ixodes scapularis*

Classification et anatomie

La tique *Ixodes scapularis* appartient à la famille des tiques dures (Ixodida : Ixodidae). Le genre *Ixodes* comprend le plus grand nombre d'espèces de cette famille soit 245 sur un ensemble de 682 (Nijhof et coll. 2018). Avec la famille des tiques molles (Ixodida : Argasidae), 184 espèces, et la famille monotypique des Nuttaliellidae (Ixodida : Nuttaliellidae), elle forme l'ordre des tiques (Ixodida) qui regroupe, à ce jour, 867 espèces du superordre des acariens (Acari) parasitiformes inclus dans la classe des arachnides (Arachnida) (Krantz 1971, Nijhof et coll. 2018).

L'ensemble des espèces de tiques ont en commun le fait d'être obligatoirement hématophage et, ce, à leurs 3 stades de développement : la larve, la nymphe et l'adulte (Anderson & Magnarelli 2008). Toutes les tiques possèdent un capitulum (gnathosome) et un corps (idiosome) sur lequel s'attachent les pattes (Lindquist et coll. 2016). Les tiques aux stades nymphal et adulte sont munies de 4 paires de pattes alors que la larve en a 3 (Cupp 1991, Anderson & Magnarelli 2008). Les tiques dures se distinguent des tiques molles par le fait qu'elles sont munies d'un bouclier dur (scutum) recouvrant la portion antérieure de l'aspect dorsal de leur corps chez la larve, la nymphe et la femelle adulte alors qu'il recouvre tout le corps chez le mâle (Lindquist et coll. 2016). Contrairement aux tiques molles qui prennent

plusieurs petits repas intermittents, chaque stade prend un seul repas sanguin de plusieurs jours (Cupp 1991, Anderson & Magnarelli 2008, Lindquist et coll. 2016).

Ixodes scapularis est une tique dite à 3 hôtes, c'est-à-dire que chaque stade retourne dans l'environnement une fois le repas sanguin terminé (Lindquist et coll. 2016). Ce repas, selon le stade, fournit l'énergie pour la mue, la prochaine quête, la reproduction et la ponte (Anderson & Magnarelli 2008). Les tiques à 3 hôtes alternent entre courtes périodes où elles se nourrissent sur un hôte et de longues périodes dans l'environnement (Lindquist et coll. 2016). Chez *I. scapularis*, la larve, la nymphe et l'adulte se nourrissent pour des périodes de 3 à 5, 3 à 8 et 6 à 10 jours respectivement sur un cycle de vie de 2 à 4 ans (Yuval & Spielman 1990, Lindsay et coll. 1998, Piesman & Gern 2004, Troughton & Levin 2007). Bien que peu étudiés, les mâles adultes *I. scapularis* peuvent prendre, sans que ce soit nécessaire, de courts repas sanguins leur permettant de compléter leur fonction reproductive, mais ne peuvent se gorger étant donné l'inextensibilité du bouclier recouvrant leur corps (Piesman & Gern 2004). Les membres de l'espèce *I. scapularis* passent donc jusqu'à 98 % de leur vie dans l'environnement où elles alterneront entre des périodes dédiées à la survie (quiescence) ou à leur développement (diapause et mue) et des périodes dédiées à la quête d'un prochain hôte (Anderson & Magnarelli 2008).

Le repas sanguin

Les tiques dures ont acquis évolutivement les structures anatomiques et les caractéristiques physiologiques nécessairement à la prise de repas sanguins de plusieurs jours. Elles doivent non seulement mobiliser des mécanismes nécessaires pour leur attachement à l'hôte, mais qui permettent également de contourner ses mécanismes de défense (Wikel 2013). Le repas se

divise en quatre phases importantes : 1- l'initiation, 2- la phase d'engorgement lente, 3- la phase d'engorgement rapide et 4- le détachement (Villeneuve 2012).

D'abord, le repas sanguin est initié lorsque la tique enfonce sa pièce buccale sous la peau de l'hôte. La pièce buccale est une structure anatomique située sur le capitulum (Lindquist et coll. 2016). Cette structure anatomique est composée ventralement de l'hypostome (ou rostre), de deux chélicères dorsalement et d'un canal nourricier au centre de l'hypostome (Anderson & Magnarelli 2008, Richter et coll. 2013). Les chélicères sont deux pièces mobiles munies de doigts à leur extrémité. Elles ont pour fonction de déchirer la peau et d'y faire glisser l'hypostome dont les denticules, de petits crochets acérés, fournissent un premier ancrage à l'épiderme de l'hôte (Richter et coll. 2013).

Ensuite, les mécanismes médiés par la salive permettant de moduler les défenses de l'hôte entrent en jeu. La tique doit moduler les réponses liées à la douleur, la démangeaison, l'inflammation, l'hémostase, la cicatrisation ainsi que les immunités acquise et adaptative tout au long de son repas (Wikel 2013, Nuttall 2019a). La majorité des protéines sécrétées par *I. scapularis* n'ont pas de fonction connue (Kim et coll. 2016). Parmi les protéines dont la fonction est connue se trouvent sans s'y limiter des protéases, des inhibiteurs de protéases, des protéines liées à l'immunité, au métabolisme de l'oxydoréduction, des antimicrobiens, des lipocalines, des protéines liant l'hème ou le fer, des protéines du cytosquelette et des protéines ménagères (Kim et coll. 2016). Les glandes salivaires sécrètent également le ciment, un ensemble de substances permettant d'ancrer la tique à son site d'attachement, de sceller la lésion cutanée et de la protéger contre l'infection d'agents infectieux situés sur la peau (Suppan et coll. 2018). Chez *I. scapularis*, le ciment est composé de 80-90 % de protéines, dont des

protéines d'échafaudage, de la matrice extracellulaire et riches en glycine (Suppan et coll. 2018, Mulenga et coll. 2022).

Habitat, survie et quête

Une fois son repas complété, *I. scapularis* se détache de l'hôte pour poursuivre son développement, c.-à-d. muer au stade suivant chez la larve et la nymphe ou pour l'oviposition chez la femelle adulte. Détachée d'un hôte, la tique doit survivre à un environnement hostile suffisamment longtemps pour trouver un autre hôte et prendre son repas.

La survie de la tique *I. scapularis* y est favorisée par un ensemble de facteurs biotiques et abiotiques (Ogden & Lindsay 2016). Parmi les facteurs abiotiques se trouvent des facteurs microclimatiques influencés à la fois par le climat et par l'habitat comme la pression de vapeur et la température au niveau du sol (Bertrand & Wilson 1997, Lindsay et coll. 1999b, Diuk-Wasser et coll. 2010). Les habitats les plus favorables à la survie d'*I. scapularis* sont les forêts de feuillus ou mixtes dont les arbres feuillus perdent leurs feuilles à l'automne (Ostfeld et coll. 1995, Schulze & Jordan 1996, Lindsay et coll. 1999b). Le couvert végétal des arbres feuillus réduit l'exposition du sol au soleil et fournit une épaisse litière de feuilles mortes (Guerra et coll. 2002). Ce facteur biotique permet de conserver une bonne humidité au niveau du sol protégeant ainsi les tiques de la dessiccation à laquelle elles sont très sensibles (Schulze et coll. 1995, Guerra et coll. 2002). Les différentes essences d'arbres ont également pour fonction de fournir la nourriture aux hôtes potentiels de la tique. La production de certains glands par les chênes a notamment été associée positivement à la densité de tiques (Ostfeld et coll. 2006a).

Entre les périodes de quête ou après un repas, la tique retourne sous la litière pour se réhydrater si nécessaire, se protéger contre des conditions hostiles à sa survie et poursuivre son développement (Gray et coll. 2016). Après leur repas, les différents stades entrent en diapause. Il s'agit d'un mécanisme physiologique induit par la tique pour diriger ses ressources vers la mue ou l'oviposition (Belozarov 2009, Gray et coll. 2016). Si les conditions météorologiques sont impropres à la quête ou lorsqu'une tique échoue à trouver un hôte, elle peut entrer en quiescence. Il s'agit d'un mécanisme induit par des conditions extérieures permettant de préserver les réserves d'énergie de la tique afin de recommencer la quête à un moment plus favorable (Belozarov 2009, Gray et coll. 2016).

Pour se mettre en quête d'un hôte, les tiques quittent la protection fournie par la litière. Sous forme larvaire, elles ne parcourent que quelques centimètres ce qui explique qu'elles piquent principalement les micromammifères qui évoluent au niveau du sol (Stafford 1992a). À l'opposé, les adultes, moins sensibles à la dessiccation, se déplacent plus en hauteur, sur la végétation basse, pour prendre des hôtes potentiels en embuscade (Ginsberg 1992). Une fois positionnés, ces stades se mettent en attentes d'hôtes qu'ils repèrent à leurs mouvements grâce aux mécanorécepteurs de leurs poils sensoriels ainsi qu'aux thermorécepteurs et chimiorécepteurs de l'organe de Haller situé à l'extrémité des deux pattes antérieures (Anderson & Magnarelli 2008).

Phénologie et hôtes

La tique *I. scapularis* est active du printemps jusqu'à l'automne cependant tous les stades ne suivent pas le même patron d'activités. Dans l'est de l'Amérique du Nord par exemple, les nymphes sont principalement actives du printemps jusqu'au début de l'été avec un pic

d'activités en juin (Piesman & Spielman 1979, Main et coll. 1982, Schulze et coll. 1985, Wilson & Spielman 1985, Yuval & Spielman 1990, Lindsay et coll. 1999a). Les larves éclosent à la fin juillet et sont principalement actives à la fin de l'été (Piesman & Spielman 1979, Main et coll. 1982, Schulze et coll. 1985, Yuval & Spielman 1990, Stafford 1992a, Lindsay et coll. 1998, Lindsay et coll. 1999a). Les adultes, pour leur part, sont principalement actives au début du printemps et à l'automne (Schulze et coll. 1985, Lindsay et coll. 1999b). Cette phénologie est influencée à la fois par le climat, la photopériode et certaines caractéristiques génétiques propres à certaines populations de tiques (Goddard 1992, Randolph et coll. 2002, Ogden et coll. 2004, Ogden et coll. 2007, Gray et coll. 2016). En somme, lors de l'été de la première année de son cycle de vie, *I. scapularis* sous forme larvaire prend son repas sur un premier hôte ; puis, lors du printemps de la deuxième année de son cycle de vie, la nymphe se met en quête d'un deuxième hôte ; et, finalement, à l'automne de la deuxième année de son cycle de vie, l'adulte quête pour un dernier hôte (Figure 2).

La tique *I. scapularis* prend ses repas sanguins sur une diversité d'hôtes vertébrés (Tableau 2). Les micromammifères contribuent à nourrir une fraction importante, 60-70 %, des stades immatures d'*I. scapularis* (Mather et coll. 1989, Dumas et coll. 2022). À l'opposé, les cerfs de virginie, *Odocoileus virgininus*, contribue à nourrir une proportion importante de tiques adultes ce qui explique l'association positive entre leur présence et la densité de tique en quête dans l'environnement (Piesman & Spielman 1979, Piesman et coll. 1979, Wilson et coll. 1985, Daniels et coll. 1998, Rand et coll. 2003, Werden et coll. 2014). Ce dernier hôte est qualifié d'hôte reproducteur puisqu'il est le lieu de rencontre et d'accouplement des mâles et des femelles. Après ce dernier repas sanguin, la femelle adulte gorgée tombe et peut pondre entre 1000 et

3000 œufs bien que la médiane en laboratoire soit de 810 (Troughton & Levin 2007, Anderson & Magnarelli 2008).

Le cycle endémique de *Borrelia burgdorferi*

Les mécanismes assurant le cycle de transmission interviennent à l'interface entre l'écologie de *B. burgdorferi*, de ses réservoirs, et celle de la tique *I. scapularis*. D'abord, *B. burgdorferi* doit survivre dans la tique, puis y cheminer de l'intestin vers les glandes salivaires pour être transmise à un réservoir compétent. Le réservoir nouvellement infecté doit permettre la prolifération de la bactérie, maintenir l'infection suffisamment longtemps et assurer la retransmission de la bactérie aux tiques qui le piqueront. La transmission de *B. burgdorferi* est également déterminée par la dynamique des populations de ses réservoirs et de son vecteur.

Le cheminement de *Borrelia burgdorferi* dans *Ixodes scapularis*

L'échelle à laquelle *B. burgdorferi* peut coloniser une tique, survivre dans l'environnement intestinal et pendant la mue, dit transmission transstadiale, et migrer vers les glandes salivaires lorsqu'un repas sanguin est initié sont des caractéristiques décrivant la compétence d'une espèce de tique pour transmettre la bactérie (Tsao 2009). Certains agents pathogènes peuvent également être transmis aux descendants de leur tique vectrice, transmission verticale de la femelle adulte vers les œufs. Ce n'est cependant pas le cas pour *B. burgdorferi* (Figure 2) (Patrican 1997). Le recours à des réservoirs permettant de maintenir et d'amplifier la bactérie entre les générations de tiques est donc nécessaire pour cette dernière espèce (Figure 2) (Tsao 2009).

Lorsqu'elle est dans la tique, la bactérie *B. burgdorferi* est liée, par le biais de la protéine Osp A, à un récepteur localisé à la surface des cellules de l'épithélium de l'intestin d'*I. scapularis* : la protéine réceptrice de la tique à Osp A (TROSPA⁵) (Pal et coll. 2004). La protéine Osp B joue également un rôle critique pour l'adhésion de *B. burgdorferi* à l'intestin d'*I. scapularis* mais n'a toujours pas de récepteur spécifique identifié (Neelakanta et coll. 2007, Tsao 2009, Tilly et coll. 2016). Lorsque le repas sanguin est initié par la tique, *B. burgdorferi* se sépare de ce récepteur et entreprend une migration de 24 à 36 h vers les glandes salivaires (Piesman & Dolan 2002). Au même moment, la synthèse des protéines nécessaires à l'invasion du réservoir, notamment la protéine Osp C, débute (Schwan et coll. 1995). La bactérie fait son chemin vers l'animal réservoir avec l'assistance des protéines salivaires de la tique. Cette transmission assistée par la salive est assurée par différentes protéines, dont la protéine salivaire (Salp⁶) 15, qui favorise l'invasion des tissus et réduit la capacité de l'hôte à éliminer *B. burgdorferi* (Nuttall 2019b).

Les réservoirs compétents

Un réservoir compétent pour *B. burgdorferi* est un animal qui a la capacité de générer de nouvelles infections chez d'autres hôtes qui y sont susceptibles de sorte que la présence de la bactérie dans l'environnement est maintenue ou amplifiée (Martin et coll. 2016). Pour ce faire, il doit : 1- être une source de repas pour la tique vectrice au moins en quelques occasions, 2- être permissif à la colonisation par un nombre suffisant de bactéries pour établir une infection, 3- permettre la multiplication et la survie des bactéries dans au moins une portion de son

⁵ Abréviation de *Tick receptor for Osp A*

⁶ Abréviation de *Salivary protein*

organisme, puis 4- assurer leur retransmission, toujours vivante et infectieuse, aux tiques vectrices qui le piquent (Kahl et coll. 2002).

La preuve la plus forte de la compétence d'un réservoir, selon Wolcott et collaborateurs (2022), est le xénodiagnostic. En laboratoire, des larves de colonies d'élevage et non infectées piquent des réservoirs infectés jusqu'à réplétion, sont muées en nymphes, puis testées pour la présence de l'agent infectieux. Le xénodiagnostic permet de valider l'acquisition de l'infection directement de l'hôte qu'elle a piqué en plus de fournir des données quant à l'efficacité de cette transmission (Wolcott et coll. 2021). Obtenue selon cette méthode, la compétence d'un réservoir représente donc la probabilité pour une tique de s'infecter en piquant un réservoir infecté et se mesure par la prévalence de tiques infectées suivant la piqûre d'un hôte infecté (Kahl et coll. 2002). C'est suivant cette méthode que Donahue et collaborateurs (1987) et Mather et collaborateurs (1990) ont identifié que 92-95 % des tiques piquant des souris *P. leucopus* étaient infectées. Telford et collaborateurs (1990) ont utilisé cette même méthode pour estimer la compétence de réservoir des musaraignes à queue courte à 82 %.

Pour déterminer la compétence de réservoirs de différentes espèces LoGiudice et collaborateurs (2003) ont plutôt capturé différentes espèces d'animaux, laissé les larves s'engorger puis muer en nymphes, puis déterminé la fraction, parmi celles ayant piqué un animal infecté, qui est devenue porteuse de *B. burgdorferi*. Les auteurs ont déterminé que les souris *P. leucopus* sont de loin les plus compétentes avec 92 % de nymphes infectées contre respectivement 55 % et 42 % pour le tamia rayé et la musaraigne à queue courte (LoGiudice et coll. 2003). Les auteurs estiment qu'obtenue avec cette méthode, la compétence de réservoir se

rapproche plus de la contribution de chaque espèce à la transmission de *B. burgdorferi* (LoGiudice et coll. 2003).

Telle que présentée aux précédents paragraphes, la définition de la compétence de réservoir est similaire à la définition d'infectivité (Kahl et coll. 2002). Brunner et collaborateurs (2008) ont élargi cette définition en en faisant le produit de l'infectivité moyenne des animaux d'une espèce et la prévalence de l'infection par *B. burgdorferi* chez ladite espèce (Brunner et coll. 2008). Sur 9 espèces de mammifères testés, avec une prévalence pouvant atteindre 100 % et une infectivité de 91,4 %, les souris à pattes blanches infecteraient 91 % des tiques qui les piquent alors que c'est 55 % pour les tamias rayés (Brunner et coll. 2008). Avec une capacité à infecter 42 % des tiques qui les piquent, les musaraignes à queue courte suivent de près les deux précédentes en matière de contribution à la transmission de *B. burgdorferi* (Brunner et coll. 2008).

Le potentiel de réservoir

Si la section précédente quantifie la transmission de l'infection entre le réservoir et la tique, elle ne décrit pas la nature de l'interaction entre ces deux espèces dans un environnement spécifique. Pour ce faire, il faut considérer deux paramètres importants pour déterminer le potentiel relatif d'un réservoir à transmettre *B. burgdorferi* aux populations de tiques : 1- la densité du réservoir compétent dans l'habitat de la tique et 2- la fraction de tiques *I. scapularis* se nourrissant à partir de ce réservoir compétent (Mather et coll. 1989).

Dans une étude de terrain réalisé sur 3 sites au Massachusetts en 1982, Mather et collaborateurs (1989) ont estimé que les souris à pattes blanches contribuaient à infecter >98 %

des larves de la tique *I. scapularis* bien que les tamias rayés soient infectés à une prévalence de 75 %. Pour comparaison, les souris à pattes blanches et les tamias rayés étaient respectivement infestés en moyenne par 16,4 et 3,2 larves (Mather et coll. 1989). Plus récemment, dans un contexte d'émergence, Dumas et collaborateurs (2022) ont estimé le potentiel de transmission des souris et des oiseaux en considérant la densité des espèces investiguées. Les souris du genre *Peromyscus* assureraient l'infection de 80 %, 6 individus par ha, des larves contre 20 % pour différentes espèces d'oiseaux, 0,2-2,0 individus par ha (Dumas et coll. 2022). Une densité plus élevée de souris et une plus grande fraction de tique se nourrissant d'elles expliquent leur haut potentiel de transmission observé. Il faut toutefois nuancer ces observations qui semblent spécifiques aux sites ou, plus largement, aux écosystèmes dans lesquels ces études se sont déroulées. À ce titre, Sidge et collaborateurs (2021) ont identifié sur une île du lac Michigan un cycle endémique de *B. burgdorferi* qui serait associé à la seule présence des tamias.

Le rôle de la phénologie et la durée de l'infection

La phénologie des différents stades de développement de la tique *I. scapularis* joue également un rôle important dans la transmission de *B. burgdorferi* (Randolph et coll. 1996, Gatewood et coll. 2009). Dans le nord-est de l'Amérique du Nord, l'asynchronicité entre les nymphes et les larves permet d'abord aux nymphes d'infecter les réservoirs de *B. burgdorferi* du printemps jusqu'au premier mois de l'été (Figure 2) (Piesman & Spielman 1979, Yuval & Spielman 1990, Ogden et coll. 2007). Ensuite, les réservoirs toujours infectés lorsque les larves entrent dans leur pic d'activité peuvent transmettre l'infection (Figure 2) (Piesman & Spielman 1979, Yuval & Spielman 1990). Lorsque les pics d'activités des différents stades sont plus synchrones, comme c'est le cas de la phénologie typique des tiques *I. scapularis* dans le centre de l'Amérique du

Nord ou en présence de toutes phénologies atypiques, la bactérie peut être transmise par *cofeeding*, c'est-à-dire directement d'une nymphe infectée vers les autres tiques piquant le réservoir au même moment sans amplification préalable dans l'animal réservoir (Voordouw 2015).

Certains réservoirs, c'est notamment le cas chez les souris du genre *Peromyscus*, peuvent devenir des porteurs sains à vie de l'infection (Lindsay et coll. 1997, Hanincová et coll. 2008). Toutefois, dans la majorité des cas, l'infection des souris dure quelques semaines (Donahue et coll. 1987, Lindsay et coll. 1997, Derdáková et coll. 2004, Hanincová et coll. 2008). La phénologie des stades d'*I. scapularis* a potentiellement un impact sur la persistance dans l'environnement de certaines souches qui tendent à se transmettre dans les populations d'hôtes et de réservoirs (Voordouw 2015). Une phénologie comme celle du nord-est de l'Amérique du Nord tendrait à favoriser des souches dont l'infection chez les réservoirs est persistante contrairement à une phénologie du centre du continent qui favoriserait également l'amplification de lignées génétiques de *B. burgdorferi* dont la durée d'infection est plus courte (Gatewood et coll. 2009, Voordouw 2015).

La durée de l'infection chez les micromammifères et l'espérance de vie des souris sauvages soulèvent des doutes quant à l'importance de leur rôle dans le maintien de *B. burgdorferi* dans l'environnement durant l'hiver. Leur espérance de vie moyenne en nature inférieure à un an fait en sorte qu'une petite fraction d'animaux survit à l'hiver (Bedford & Hoekstra 2015). Ces deux faits ont soulevé l'hypothèse du rôle important que joueraient les larves engorgées et les nymphes infectées par *B. burgdorferi* comme réservoirs permettant de maintenir la bactérie dans l'environnement durant l'hiver (Tälleklint & Jaenson 1995, Lindsay et coll. 1997).

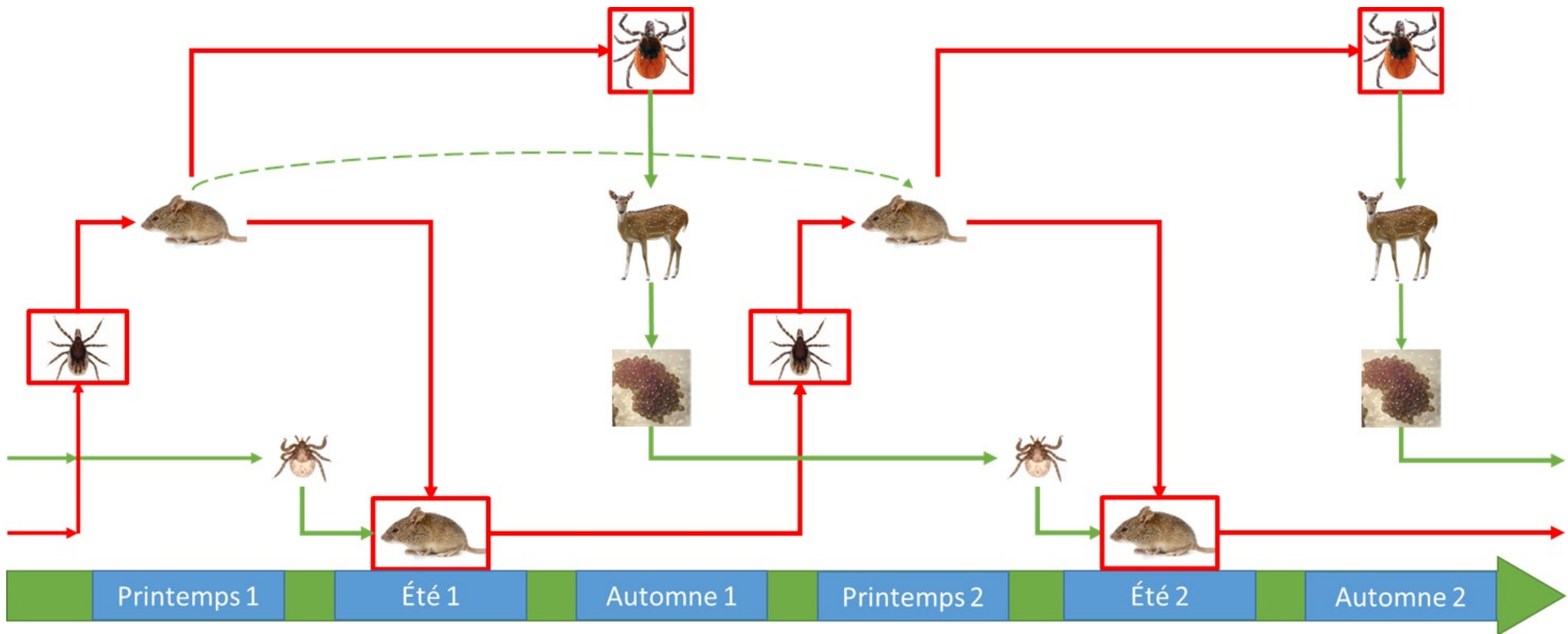


Figure 2. Schéma du cycle de transmission de *Borrelia burgdorferi* dans l'est de l'Amérique du Nord. Les traits de couleurs rouges indiquent que l'hôte ou le vecteur est infecté par *B. burgdorferi*. La flèche verte en trait pointillé illustre la faible espérance de vie des souris et nuance leur rôle dans le maintien de *B. burgdorferi* entre les saisons.

Tableau 1. Les espèces composant le complexe *Borrelia burgdorferi* sensu lato ainsi que les vecteurs et les réservoirs leurs étant associés

Espèces	Répartition	Vecteurs	Réservoirs
<i>B. afzelii</i> (Canica et coll. 1993)	Eurasie	<i>I. ricinus</i> <i>I. persulcatus</i> <i>I. hexagonus</i>	<i>Apodemus</i> spp. <i>Myodes glareolus</i> <i>Sorex</i> spp. <i>Sciurus</i> spp. <i>Erinaceus</i> spp. <i>Rattus</i> spp.
<i>B. americana</i> (Rudenko et coll. 2009c)	Amérique du Nord	<i>I. pacificus</i> <i>I. minor</i>	<i>Thyothorus ludovicianus</i> <i>Pilpo erythropthalmus</i>
<i>B. andersonii</i> (Marconi et coll. 1995)	Amérique du Nord	<i>I. dentatus</i>	<i>Sylvilagus</i> spp.
<i>B. bavariensis</i> (Margos et coll. 2013)	Eurasie	<i>I. ricinus</i> <i>I. uriae</i>	<i>Apodemus</i> spp. <i>Myodes</i> spp. <i>Microtus</i> spp. Oiseaux de mer
<i>B. bissettii</i> (Postic et coll. 1998)	Amérique du Nord Europe	<i>I. pacificus</i> <i>I. spinipalpis</i> <i>I. affinis</i> EU : inconnu	<i>Neotoma</i> spp. <i>Peromyscus</i> spp. <i>Sigmodon</i> spp. EU : inconnu
<i>B. burgdorferi</i> (Johnson et coll. 1984)	Amérique du Nord Europe	<i>I. ricinus</i> <i>I. hexagonus</i> <i>I. scapularis</i> <i>I. pacificus</i> <i>I. affinis</i> <i>I. minor</i> <i>I. spinipalpis</i> <i>I. muris</i>	<i>Peromyscus</i> spp. <i>Tamias</i> spp. <i>Neotoma</i> spp. <i>Sorex</i> spp. <i>Sciurus</i> spp. <i>Sigmodon</i> spp. <i>Erinaceus</i> spp. <i>Rattus</i> spp. <i>Procyon lotor</i> <i>Turdus migratorius</i>
<i>B. californiensis</i> (Postic et coll. 2007)	Amérique du Nord	Inconnu	<i>Dipodomys californensis</i>
<i>B. carolinensis</i> (Rudenko et coll. 2009a)	Amérique du Nord Europe ^A	<i>I. minor</i> <i>I. ricinus</i>	<i>Peromyscus gossypinus</i> <i>Nerodia floridana</i>
<i>B. finlandensis</i> (Casjens et coll. 2011)	Europe	<i>I. ricinus</i>	Inconnu
<i>B. garinii</i> (Baranton et coll. 1992)	Amérique du Nord Eurasie Antarctique	<i>I. ricinus</i> <i>I. persulcatus</i> <i>I. uriae</i>	<i>Turdus merula</i> <i>Turdus philomenos</i> <i>Parus major</i> Oiseaux maritimes
<i>B. japonica</i> (Kawabata et coll. 1993)	Asie (Japon)	<i>I. ovatus</i>	<i>Sorex unguiculatus</i> <i>Apodemus</i> spp. <i>Eothenomys smithi</i>
<i>B. kurtenbachii</i> (Margos et coll. 2010)	Amérique du Nord	<i>I. scapularis</i>	<i>Microtus pennsylvanicus</i>
<i>B. lanei</i> (Margos et coll. 2017)	Amérique du Nord	<i>I. pacificus</i> <i>I. spinipalpis</i>	Inconnu
<i>B. lusitaniae</i> (Le Fleche et coll. 1997)	Europe	<i>I. ricinus</i>	Lacertidae
<i>B. mayonii</i> (Pritt et coll. 2016b) ^B	Amérique du Nord	<i>I. scapularis</i>	<i>Peromyscus leucopus</i>

Tableau 1 (suite)

Espèces	Répartition	Vecteurs	Réservoirs
<i>B. mayonii</i> (suite)	Amérique du Nord	<i>I. scapularis</i>	<i>Tamias striatus</i> <i>Tamiasciurus hudsonicus</i>
<i>B. maritima</i> (Margos et coll. 2020)	Amérique du Nord	<i>I. spinipalpis</i>	Inconnu
<i>B. sinica</i> (Masuzawa et coll. 2001)	Asie (Chine)	<i>I. ovatus</i>	<i>Niviventer confucianus</i>
<i>B. spielmanii</i> (Richter et coll. 2006)	Europe	<i>I. ricinus</i>	<i>Glis glis</i> <i>Eliomys quercinus</i>
<i>B. tanukii</i> (Fukunaga et coll. 1996a)	Asie (Japon)	<i>I. tanuki</i>	<i>Apodemus</i> spp. <i>Clethrionomys rufocanus</i> <i>Eothenomys smithii</i>
<i>B. turdi</i> (Fukunaga et coll. 1996a)	Asie (Japon)	<i>I. turdus</i>	<i>Turdus</i> spp.
<i>B. valaisiana</i> (Wang et coll. 1997)	Eurasie	<i>I. ricinus</i> <i>I. columnae</i>	<i>Turdus merula</i> <i>Turdus philomelos</i> <i>Parus major</i>
<i>B. yangzte</i> (Chu et coll. 2008)	Asie (chine)	<i>I. granulatus</i> <i>I. nipponensis</i>	<i>Niviventer fulvescens</i> <i>Apodemus</i> spp.

Note : inspiré de Margos et collaborateurs (2011) et Manelli et collaborateurs (2012).

^AIdentification d'une tique européenne positive par Cotté et collaborateurs (2010).

^B*Borrelia mayonii* a été identifié chez des patients malades, les informations quant à son vecteur viennent de Johnson et collaborateurs (2018) et Fleshman et collaborateurs 2021, et pour ses réservoirs de Johnson et collaborateurs (2017) et Siy et collaborateurs (2021).

Tableau 2. Les espèces et groupes d'espèces vertébrés hôtes de la tique *Ixodes scapularis*

Micromammifères	Mésomammifères	Macromammifères	Oiseaux
<i>Blarina brevica</i>	<i>Didelphis virginiana</i>	<i>Odocoileus virginianus</i>	<i>Agelaius phoeniceus</i>
<i>Microtus breweri</i>	<i>Glaucomys volans</i>	<i>Ursus americanus</i>	<i>Cardinalis cardinalis</i>
<i>Microtus pennsylvanicus</i>	<i>Mustela frenata</i>		<i>Carpodacus</i> spp.
<i>Microtus pinetorum</i>	<i>Marmota monax</i>		<i>Catharus</i> spp.
<i>Myodes gapperi</i>	<i>Mephitis mephitis</i>		<i>Certhia americana</i>
<i>Napaeozapus insignis</i>	<i>Procyon lotor</i>		<i>Colinus virginianus</i>
<i>Peromyscus leucopus</i>	<i>Rattus norvegicus</i>		<i>Cyanocitta cristata</i>
<i>Peromyscus maniculatus</i>	<i>Sylvagus floridanus</i>		<i>Dendroica</i> spp.
<i>Scapolatus aquaticus</i>	<i>Urocyon cinereoargenteus</i>		<i>Dumetella carolinensis</i>
<i>Sciurus carolinensis</i>	<i>Vulpes vulpes</i>		<i>Geothlypis trichas</i>
<i>Sorex cinereus</i>			<i>Helminthophila vermivorus</i>
<i>Sorex fumeus</i>			<i>Hylocichla ustulata</i>
<i>Tamias striatus</i>			<i>Icteria virens</i>
<i>Zapus hudsonicus</i>			<i>Junco hyemalis</i>
			<i>Meleagris gallopavo</i>
			<i>Melospiza melodia</i>
			<i>Miniotila varia</i>
			<i>Molothrus ater</i>
			<i>Oporornis formosus</i>
			<i>Passer domesticus</i>
			<i>Passerella iliaca</i>
			<i>Passerina cyanea</i>
			<i>Parus</i> spp.
			<i>Pheucticus ludovicianus</i>
			<i>Pipilo erythrophthalmus</i>
			<i>Quiscalus quiscula</i>
			<i>Sayornis phoebe</i>
			<i>Scolopax minor</i>
			<i>Seiurus</i> spp.
			<i>Setophaga pennsylvanica</i>
			<i>Sitta carolinensis</i>
			<i>Spizella pusilla</i>
			<i>Sturnus vulgaris</i>
			<i>Thyrothorus ludovicianus</i>
			<i>Troglodytes</i> spp.
			<i>Turdus migratorius</i> L.
			<i>Toxostoma rufum</i>
			<i>Vermivora pinus</i>
			<i>Vireo</i> spp.
			<i>Wilsonia</i> spp.
			<i>Zonotrichia albicollis</i>

Note : adapté de Bouchard (2013). Les noms d'espèce en caractère gras indiquent des réservoirs compétents pour *B. burgdorferi* et sont tiré de Margos et collaborateurs (2011) et Wolcott et collaborateurs (2022).

La maladie de Lyme chez les humains

Symptomatologie

La maladie de Lyme *sensu stricto*

La ML est multisystémique puisqu'elle touche la peau, les articulations, le système nerveux et le cœur. La maladie se caractérise par trois phases : localisée précoce, disséminée précoce et disséminée tardive (Tableau 3) (Sood 2011). La maladie commence, au stade 1, dans 70-80 % des cas par l'apparition d'un érythème migrant localisé au site de la piqûre qui est généralement accompagnée de symptômes grippaux non spécifiques et plus rarement de lymphadénopathies (Schwartz et coll. 2017, *Center for Disease Control and Prevention (CDC) 2022a*). Dans certains cas, de multiples érythèmes migrants peuvent se manifester ; un signe que l'infection se dissémine (Sood 2011).

Lorsque disséminée, dans les semaines suivant une piqûre, l'infection peut générer des symptômes associés au système nerveux, neuroborréliose, et au cœur, cardite de Lyme, associé au stade 2 de la maladie (Steere et coll. 1980, Garcia-Monco & Benach 1995, Radesich et coll. 2022). En Amérique du Nord, 12 % des cas développent une neuroborréliose et 0.5-8% une cardite de Lyme (Rubin et coll. 1992, Sood 2011). Peu fréquemment, les symptômes neurologiques peuvent persister plus de 6 mois dans une forme de la maladie appelée neuroborréliose persistante ou neuroborréliose de stade 3 (Tableau 3). Les manifestations neurologiques de la maladie sont plus fréquentes en Europe puisqu'ils sont associés à *B. garinii* qui aurait un tropisme plus élevé que les autres espèces de borrelies pour les tissus nerveux (Coipan et coll. 2016).

Dans un troisième temps, généralement après une période de latence de plusieurs mois suivant la phase précoce, la ML se manifeste dans une phase tardive ou stade 3 (Tableau 3). Les principales manifestations cliniques de cette phase sont l'arthrite de Lyme et la dermatoborréliose (Sood 2011). Cette dernière peut prendre 2 formes soit le lymphocytome borrélien ou l'acrodermatite atrophiante chronique (Sood 2011). La première forme est plutôt rare et toucherait principalement les enfants (Berglund et coll. 1995, Müllegger 2001, Christova & Komitova 2004, Glatz et coll. 2015). Aussi rare, la seconde forme touche principalement les femmes et les patients âgés de plus de 40 ans (DiCaudo et coll. 1994, Berglund et coll. 1995, Christova & Komitova 2004). La dermatoborréliose se trouve principalement en Europe puisqu'elle est plutôt associée à l'espèce *B. afzelii* (Balmelli & Piffaretti 1995, Coipan et coll. 2016).

L'arthrite de Lyme est plus fréquemment associée à l'espèce *B. burgdorferi* ce qui explique qu'il s'agit de la manifestation clinique, hors érythème migrant, la plus fréquente en Amérique du Nord (Balmelli & Piffaretti 1995). Les patients atteints de la maladie développent cette forme dans une proportion de 27,5 % (Schwartz et coll. 2017). Les articulations les plus atteintes sont les genoux, mais toutes les articulations peuvent être touchées (CDC 2021a).

Infection asymptomatique

L'idée d'une infection par *B. burgdorferi* qui s'avérerait asymptomatique reste à ce jour controversée. Des études ont montré des humains ayant développé une réponse immunitaire contre *B. burgdorferi* en absence de manifestation clinique (Hanrahan et coll. 1984, Steere et coll. 1998, Niścigorska et coll. 2003). Plusieurs hypothèses ont été soulevées comme le fait que les séroconversions asymptomatiques observées seraient des faux positifs, que l'infection serait

latente, les symptômes de la phase tardive se manifesteront en absence de traitement, ou qu'il s'agirait d'infections par des souches peu invasives de *B. burgdorferi* (Hanrahan et coll. 1984, Wormser et coll. 2001, Sood 2011). Les souches en question se limiteraient à une infection locale de la peau n'ayant pas la capacité de se disséminer (Seinost et coll. 1999). Ces faits ne changeraient toutefois pas les recommandations de traitement qui doit être initié sur preuve d'exposition à *B. burgdorferi* (Sood 2011).

Syndromes post-traitement

La plupart des formes cliniques de la ML, incluant les formes tardives, peuvent être traitées à l'aide d'antibiotique. Toutefois, jusqu'à 10 % des patients atteints de la forme tardive de la maladie vont développer des symptômes persistants affectant principalement le système musculosquelettique (Cairns & Godwin 2005). Ces manifestations cliniques sont nommées les syndromes post-traitement (Ścieszka et coll. 2015, Steere 2020). Quatre entités distinctes sont, à ce jour, décrites : 1- arthrite de Lyme post-infectieuse, 2- syndrome post-traitement, 3- maladie articulaire auto-immune et 4- maladie neurologique auto-immune (Steere 2020).

Pathogénicité

Toutes les espèces de *B. burgdorferi* *s.l.* ne sont pas associées à la ML lorsqu'elles infectent un humain. Les espèces *B. afzelii*, *B. burgdorferi* et *B. garinii*, ont en tout premier lieu été associées à la ML puisqu'elles étaient fréquemment isolées de patients humains (Baranton et coll. 1992). Toutefois, l'identification de *B. bavariensis*, *B. bissetti*, *B. kurtenbachii*, *B. lusitaniae*, *B. mayonii*, *B. spielmanii* et *B. valaisiana* chez des patients atteints de la ML a étendu le spectre des espèces de *B. burgdorferi* *s.l.* avec un potentiel pathogène (Picken et coll. 1996, Rijpkema et coll. 1997, Collares-Pereira et coll. 2004, Maraspin et coll. 2006, Margos et coll. 2009, Rudenko et coll.

2009c, Pritt et coll. 2016a). Les données manquent toutefois quant à la fréquence à laquelle ces borrélioses sont associées à des cas de ML. Bien que certaines espèces de borrélioses soient plus fréquemment associées à certaines manifestations cliniques, chacune peut causer l'ensemble des symptômes répertoriés (Rudenko et coll. 2011).

Incidence et distribution en Amérique du Nord⁷

Aux États-Unis

Depuis 2008, plus de 30 000 cas probables et confirmés de ML sont déclarés par année avec, pour exception, l'année 2020 pendant laquelle les activités extérieures étaient limitées à cause de la pandémie (CDC 2022b). Ce nombre de cas correspond à une incidence cumulée située dans un intervalle de 9.8 - 13,2 cas déclarés et probables par 100 000 habitants entre 2008 et 2019 (CDC 2022b). Ce nombre serait toutefois sous-estimé puisqu'il y aurait, entre autres, principalement dans les régions où l'incidence de la ML est élevée, une sous-déclaration des médecins par un facteur de 3 à 12 cas par cas déclaré (Coyle et coll. 1996, Meek et coll. 1996, Campbell et coll. 1998, Orloski et coll. 1998, Nelson et coll. 2015). En tenant compte de cette sous-déclaration, les estimations suggèrent un nombre de cas annuel plutôt entre 300 000 et 500 000 (Nelson et coll. 2015, CDC 2021b, Kugeler et coll. 2021).

Les cas de ML sont répartis de manière hétérogène. Deux grandes zones géographiques génèrent une fraction importante des cas de ML soit le nord de la côte est et le nord du Midwest (CDC 2022c). La distribution des cas de ML est également hétérogène dans le temps.

⁷ La ML est diagnostiquée à partir d'un protocole standard composé de deux tests sérologiques interprétés en séries. Pour plus de détails sur comment la ML est diagnostiquée, voir la sous-section [Diagnostic](#) dans la section *Prévention et contrôle du risque*.

La majorité des cas, > 80 %, surviennent entre les mois de mai et septembre avec le mois de juillet comme période maximale d'occurrence (CDC 2022b). Ce patron saisonnier dans la distribution des cas correspond à la période d'activités des tiques.

Au Canada et au Québec

Au Canada, le nombre de cas de la maladie est passé de 144 en 2009 à 3147 en 2021 (ASPC 2023). La majorité des cas sont identifiés dans le sud du pays, c.-à-d. près de la frontière avec les États-Unis (ASPC 2023). Les provinces canadiennes montrant les incidences cumulées les plus élevées sont la Nouvelle-Écosse, l'Ontario, le Québec et le Manitoba avec respectivement 85,6; 8,0; 5,9 et 4,8 cas déclarés par 100 000 habitants en 2019 (ASPC 2022).

Contrairement à ce qui est observé aux États-Unis, Ogden et collaborateurs (2019) ont estimé qu'une sous-déclaration importante des cas de ML au Canada est peu probable. Bien que cette sous-déclaration devrait faire l'objet d'un exercice de quantification rigoureux, les auteurs suggèrent que 34 % des cas seraient déclarés là où la ML est endémique au Canada, ce qui correspond à ce qui a été observé là où la maladie est émergente aux États-Unis (Naleway et coll. 2002, Ogden et coll. 2019). Comme aux États-Unis, la distribution des cas dans le temps au Canada et au Québec est associée à la période d'activités de la tique *I. scapularis*. La courbe des cas suit une distribution unimodale dont le pic se situe au mois de juillet (Ouhoumane et coll. 2022, ASPC 2022).

Au Québec, le nombre de cas probables et confirmés a augmenté de 32 en 2011 à 709 en 2021 (MSSS 2022). En même temps, la proportion de cas acquis sur le territoire a augmenté de 16 % à 92 % (MSSS 2022). Les régions où l'incidence est la plus élevée sont l'Estrie et la Montérégie

avec respectivement 77,1 et 10,1 cas par 100 000 habitants en 2021 (Baron et coll. 2022). Ces régions sont situées au sud de la province et bordent la frontière états-unienne. À plus fine échelle, en Estrie, certains territoires comme ceux couverts par les Réseaux locaux de services (RLS)⁸ de La Pommeraie et Haute-Yamaska montrent respectivement des incidences de 357,3 et 101,0 cas par 100 000 habitants (Baron et coll. 2022).

Fardeau

La ML est rarement létale. Les infections du cœur seraient les plus susceptibles de provoquer la mort des patients. En 2015, Scheffold et collaborateurs identifiaient, à partir de la littérature scientifique, 9 cas létaux de ML dont 7 cas sont dus à un arrêt cardiaque soudain suivant une myocardite.

Toutefois, la ML occasionne un fardeau sur la santé publique et sur l'économie. Aux États-Unis, Maes et collaborateurs (1998) avec comme hypothèse une incidence de 4,73 cas par 100 000 habitants ont associé la ML à des coûts directs et indirects de \$2,5 G (*US dollars* (USD) 1996) sur une période de 5 ans. Zhang et collaborateurs (2006) ont estimé des coûts annuels directs et indirects de 292 \$ M (USD 2000). Cette étude rapporte également le coût des soins par patient. Le coût des soins pour un patient atteint de la phase précoce de la maladie était estimé à 2 970 \$ (USD 2000) alors qu'il était estimé à 5 202 \$ (USD 2000) pour un patient atteint de la forme tardive (Zhang et coll. 2006). Plus récemment, Adrion et collaborateurs (2015) ont estimé le fardeau économique annuel de la ML aux États-Unis à des coûts supplémentaires de

⁸ Unité administrative chargée de mettre en œuvre des services de santé et sociaux à la population locale au Québec.

3 048 \$ (USD 2015) pour un patient atteint de la ML et de \$3 946 (USD 2015) pour un patient atteint d'un syndrome post-traitement.

Les symptômes débilitants de la ML sont associés à la phase tardive de la maladie et ainsi qu'aux syndromes post-traitement. Ce sont ces symptômes qui sont associés à une perte de qualité de vie et de productivité chez les humains atteints. Aux Pays-Bas, van den Wijngaard et collaborateurs (2015) ont estimé que la ML occasionne 10,6 *Disability-adjusted life years* (DALY) par 100 000 habitants dont 0,9 sont associées à la forme tardive de la maladie et 9,1 aux syndromes post-traitements. Au Canada, Mac et collaborateurs (2021) ont estimé, seulement pour la province de l'Ontario, avec une incidence cumulée de 333 cas de ML par 100 000 habitants, une perte de 271 *Quality-adjusted life years* (QUALY) par année pour l'ensemble de la population. Le paramètre ayant le plus d'impact sur le nombre de QUALY sont liés au développement et à la durée des syndromes post-traitement (Mac et coll. 2021).

Aux États-Unis, il a également été montré que les humains réduisent en moyenne leur temps dédié à des activités récréatives extérieures de 9,4h par année en réponse aux risques, ou du moins la perception du risque, associé à la présence de tiques infectées par *B. burgdorferi* dans l'environnement (Berry et coll. 2018). Dans une étude réalisée à Bromont en Estrie, Aenishaenslin et collaborateurs (2021) ont également montré un impact de la perception du risque de ML sur les activités extérieures notamment par des diminutions du temps alloué à ces activités ou des changements de type d'activités.

Facteurs de risque

Le facteur de risque principal de transmission de la ML aux humains est l'exposition aux tiques infectées par *B. burgdorferi*. La densité de nymphes en quête infectées par *B. burgdorferi* dans l'environnement (DIN⁹) est fortement associée aux cas de ML (Klein et coll. 1996, Mather et coll. 1996, Pepin et coll. 2012). Ceci pourrait être expliqué par le fait que leur pic d'activités correspond avec la saison où les humains sont actifs à l'extérieur et que leur petite taille fait en sorte qu'elles sont difficilement repérables lorsqu'elles piquent. La DIN seule n'arrive toutefois pas à expliquer entièrement le risque d'exposition aux tiques et de transmission de la ML. Des déterminants comportementaux et liés à l'organisation des paysages doivent être pris en compte (Dister et coll. 1997, Cromley et coll. 1998, Connally et coll. 2006, Bouchard et coll. 2018, Bouchard et coll. 2023).

Dans les zones où des tiques infectées sont présentes, la fréquence et la durée des activités extérieures sont des facteurs de risque importants (Smith et coll. 1988, Lane et coll. 1992, Ley et coll. 1995, Finch et coll. 2014, Mead et coll. 2018, Aenishaenslin et coll. 2022, Magnavita et coll. 2022). Dans une récente étude réalisée au Canada, Aenishaenslin et collaborateurs (2022) ont identifié une association positive, rapport de cotes (OR¹⁰) = 3,1, entre le temps passé à l'extérieur et le fait d'avoir été en contact avec une tique. Des études ont également avancé certaines activités qui présenteraient un risque plus élevé, comme couper du bois ou jardiner (Lane et coll. 1992, Smith et coll. 2001).

⁹ Abréviation de *Density of infected nymphs*

¹⁰ Abréviation de *Odds ratio*

Il est possible d'identifier différents contextes de risque d'exposition à la ML ou aux tiques. Eisen (2021), dans une synthèse des écrits, en identifie deux soit le contexte récréatif et le contexte péri-domestique. Le premier se caractérise par une exposition ponctuelle par le biais d'activités extérieures réalisées en zone à risque (Eisen 2021). Le second contexte, caractérisé par le fait que les humains et les tiques infectées partagent le même habitat, serait associé à la majorité des cas d'exposition aux tiques ou de ML (Falco & Fish 1988, Klein et coll. 1996, Cromley et coll. 1998). Fischhoff et collaborateurs (2019), dans une méta-analyse, ont estimé que le risque d'acquisition de la ML est plus élevé à l'échelle d'un terrain résidentiel et du proche voisinage. Ce risque serait plus élevé, selon Cromley et collaborateurs (1998), dans des quartiers où la densité d'habitation est moyenne plutôt que faible. Des facteurs à l'échelle du terrain résidentiel sont également associés à la ML. Orloski et collaborateurs (1988) ont identifié une association positive entre la présence de murs de pierre et d'empilement de bois, et le fait d'avoir développé la maladie. La présence de végétation sur les propriétés ou à proximité, de litière de feuilles mortes, d'humus humide au sol et de cerfs de Virginie a été également identifiée comme facteur de risque (Ley et coll. 1995, Klein et coll. 1996, Orloski et coll. 1998, Finch et coll. 2014).

Aux deux contextes de risque identifiés précédemment, le contexte occupationnel, c.-à-d. toutes expositions découlant d'un emploi, pourrait être ajouté. Récemment, dans une méta-analyse, Magnavita et collaborateurs (2022) ont identifié une association positive, OR = 2,4, entre le fait d'être un travailleur forestier ou agricole et le fait d'avoir été exposé à la ML. Cette méta-analyse a été réalisée principalement à partir d'études européennes (Magnavita et coll. 2022). En Amérique du Nord, Bowen et collaborateurs (1984) ont identifié un taux d'incidence

de ML 5 fois plus élevé pour les travailleurs extérieurs en comparaison aux travailleurs intérieurs. Schawrtz & Goldstein (1990) ont identifié une association positive, OR= 5,1, entre le fait d'être un travailleur extérieur et l'exposition aux tiques dans l'état du New Jersey.

La courbe de risque de la ML en fonction de l'âge des humains est bimodale. Le risque de développer la maladie est plus élevé chez les enfants de 5 à 9 ans et chez les adultes âgées de 65 à 69 ans (Schwartz et coll. 2017, CDC 2022c, Kugeler et coll. 2022). Le risque de ML est également 39-89 % plus élevé chez les hommes que chez les femmes (Schwartz et coll. 2017, Kugeler et coll. 2022).

Tableau 3. Phases et manifestations cliniques de la maladie de Lyme

Phases cliniques	Manifestations	Période	Descriptions
Précoce (localisée)	Érythème migrant focal	3 à 30 jours	Lésion rougeâtre provenant du site de la piqûre et qui s'éloigne progressivement du centre : <ul style="list-style-type: none"> • Prends souvent la forme d'une cible • Rarement prurigineuse
	Syndromes grippaux	3 à 30 jours	Symptômes systémiques et peu spécifiques : <ul style="list-style-type: none"> • Fréquents : arthralgie, myalgie, mal de tête, fatigue, raideur au coup, fièvre, frissons, anorexie, nausée et malaise • Peu fréquents : douleur modérée à la gorge, douleur au dos, paresthésie et dysesthésie <p>Les symptômes musculosquelettiques sont typiquement migrants et intermittents.</p>
Précoce (disséminée)	Érythèmes migrants multifocaux	3 à 30 jours	Multiplés érythèmes migrants localisés sur l'ensemble du corps
	Cardite de Lyme	3 à 30 jours	Arythmies : <ul style="list-style-type: none"> • Fréquent : blocs atrio-ventriculaires • Peu fréquent : tachycardie fasciculaire, asystolie, fibrillation atriale Myocardite, péricardite et endocardite Cardiomyopathie dilatée
	Neuroborréliose ^A	5 à 90 jours	Radiculonévrite : <ul style="list-style-type: none"> • Douleurs parfois sévères au tronc et aux extrémités • Parésies et paresthésies mononeuropathiques, et plexopathiques Neuropathies crânielles : parésie du nerf facial Méningite lymphocytaire aseptique
	Lymphocytome borrélien ^B	> 1 mois	Plaque ou nodule rouge bleuté de 1 à 5 cm au lobe d'oreille ou à la poitrine
Tardives (disséminée)	Acrodermatite atrophiante chronique ^B	> 1 an	Enflure parfois douloureuse de couleur rouge bleutée sur la peau des pieds, des jambes ou d'autres extrémités
	Neuroborréliose ^A	> 6 mois	Continuations des symptômes de la phase précoce de façon persistante ou intermittente Des lésions focales au cerveau et à la moelle épinière peuvent se développer
	Arthrites de Lyme	> 6 mois	Mono ou oligoarthrites impliquant fréquemment les genoux : <ul style="list-style-type: none"> • Enflure des articulations touchées • Raideur matinale

Note : synthèse de Sood (2011).

^ALes symptômes de neuroborréliose peuvent se manifester durant les phases précoces et tardives.

^BDeux formes regroupées sous le terme dermatoborréliose.

Prévention et contrôle du risque

Prévention secondaire

Traitement

Lorsque la ML est diagnostiquée rapidement, l'administration d'antibiotiques oraux pendant 2 à 4 semaines, selon le type de manifestation clinique, résout rapidement la maladie et l'infection (Steere 2020). L'antibiotique de choix pour les hommes adultes et les femmes adultes non enceintes est 100 mg de doxycycline administrée 2 fois par jour (Steere et coll. 1994, Wormser et coll. 2006). Chez les enfants de moins de 8 ans dont le traitement doit persister plus de 14 jours et les femmes enceintes, un traitement à base de β lactamines, comme l'amoxicilline, la céfuroxime ou le céfotaxime, administré oralement 3 fois par jour pendant 2 à 4 semaines est recommandé (Wormser et coll. 2006). Les manifestations tardives de la maladie sont toutefois plus difficiles à traiter (Steere 2020). Le traitement débute généralement avec 30 jours de doxycycline administrée oralement (Steere & Angelis 2006). Puis, il évolue vers l'administration d'un antibiotique intraveineux, généralement le ceftriaxone, pour un mois supplémentaire si l'infection et la maladie ne sont pas résolues (Steere & Angelis 2006). Chez la majorité des patients ce dernier protocole suffit à moins que la maladie n'évolue vers des syndromes post-traitement (Steere 2020).

Diagnostic

Le protocole standard pour le diagnostic de la ML est l'identification d'une réponse sérologique de type IgG ou IgM (sérodiagnostic) à une infection par *B. burgdorferi* à l'aide de deux tests interprétés en série (CDC 1995, Lindsay et coll. 2014). D'abord, un test immuno-enzymatique

(EIA¹¹) est réalisé, puis, si positif ou faiblement positif, le résultat est confirmé à l'aide d'un immunobuvardage de type *Western* (CDC 1995, Craven et coll. 1996, Lindsay et coll. 2014). L'utilisation de ces deux tests permet de réduire les possibilités d'un résultat faussement positif généralement associé à l'utilisation d'un EIA seul (Craven et coll. 1996).

En Amérique du Nord, si la spécificité du protocole standard reste > 98 % peu importe la phase de la maladie, la sensibilité est faible lors de la phase localisée précoce, 46,3 %, augmente à 89,7 % lors de la phase disséminée précoce pour atteindre 99,4 % lors de la phase tardive (Waddell et coll. 2016). En Europe, Leeflang et collaborateurs (2016) ont estimé à partir d'une prévalence de 10% les valeurs prédictive positive et négative du test standard à respectivement 31% et 97%. La valeur prédictive positive d'un résultat positif au protocole standard lorsque la prévalence de la ML est faible peut être aussi basse que 20% suggérant une valeur diagnostique faible dans ce contexte (Lantos et coll. 2015). Récemment, les études montrent que le premier EIA peut être suivi d'un second ciblant des anticorps dirigés contre le peptide C6 de la lipoprotéine analogue des *Variable Major Proteins* (VLPs¹²) et ce qui a mené à l'adoption d'un protocole modifié de dépistage de la ML (Waddell et coll. 2016, *Lyme Disease Diagnostics Working Group*, 2020). Sans résoudre complètement l'enjeu du manque de sensibilités des tests diagnostiques en début d'infection (Waddell et coll. 2016), ce protocole modifié l'augmenterait de 25% dans pareilles situations (*Lyme Disease Diagnostics Working Group*, 2020). Cette limite peut toutefois être amenée en informant les médecins sur : 1- les meilleurs moments pour effectuer un test sérologique, 2- comment interpréter les résultats des tests, 3- le besoin, par

¹¹ Abréviation d'*Enzyme immunoassay*

¹² Abréviation de *VMP-like proteins*

moment, de tests répétés et 4- les possibilités de traitement empirique lors de résultat négatif (Ogden et coll. 2019).

Prophylaxie post-exposition

Dans les 72h suivants une piqûre par une tique infectée, l'administration d'une dose orale en prophylaxie de 200 mg de doxycycline chez les adultes ou de 4 mg/kg chez les enfants de plus de 8 ans permet de réduire le risque de développer des symptômes de la ML (Nadelman et coll. 2001, Harms et coll. 2021, Zhou G. et coll. 2021). Des protocoles administrant des antibiotiques oraux comme l'amoxicilline, la pénicilline ou la tétracycline pendant 10 jours, ou l'administration topique d'azithromycine n'ont pas été montrés efficaces (Costello et coll. 1989, Shapiro et coll. 1992, Agre & Schwartz 1993, Schwameis et coll. 2017, Zhou G. et coll. 2021). Sur la base de ces résultats, il est donc recommandé d'administrer une seule dose orale de doxycycline de 200 mg (adultes) ou de 4 mg/kg (enfants \geq 8 ans) lorsqu'une tique *I. scapularis* au stade adulte ou nymphal a piqué pendant \geq 36 heures (selon le degré d'engorgement) et que la TIP dans la région est $>$ 20 % (Wormser et coll. 2006). Au Québec, la prophylaxie post-exposition est accessible en pharmacie dans les RLS ou la TIP est $>$ 20 % depuis l'avis émis par l'INSPQ en 2017 (Adam-Poupart et coll. 2017).

Prévention primaire

Vaccination

En 1999, le vaccin LYMERix ciblant l'antigène Osp A a été commercialisé en Amérique du Nord (*Lyme disease vaccine*, 1999). Le vaccin nécessitait 3 doses de primo-vaccination puis des doses de rappel pour assurer le maintien d'une concentration d'anticorps suffisamment élevée pour neutraliser et éliminer *B. burgdorferi* dans l'intestin de la tique ; là où la bactérie exprime

l'antigène (Steere et coll. 1998, Schuijt et coll. 2011). Il montrait une efficacité de 49 % après 2 doses de primo-vaccination et 76 % après 3 doses (Steere et coll. 1998). Le vaccin ne s'est pas avéré un succès commercial dû à une efficacité limitée, au besoin fréquent en doses de rappel, au prix élevé des doses, à l'exclusion des enfants de 5 à 10 ans, à la peur des effets musculosquelettiques adverses du vaccin et au contentieux quant à la possibilité induction d'arthrite par le vaccin (Hanson & Edelman 2003). Une réaction d'hypersensibilité due à une homologie de Osp A avec un antigène humain a été identifiée comme un facteur prédisposant à certaines formes d'arthrites de Lyme résistantes aux traitements (Gross et coll. 1998, Trollmo et coll. 2001). Bien qu'aucune association n'ait été identifiée entre le fait d'avoir été vacciné et le fait de développer des arthrites, il est suspecté que le contentieux aurait suffi à réduire la popularité du vaccin (Hanson & Edelman 2003, Ball et coll. 2009).

Au moment d'écrire ces lignes, un autre candidat vaccin, VLA15 est en essai clinique de phase 3 (Valneva 2023). Ce vaccin cible, en plus, des borrélioses présentes en Eurasie ce qui signifie qu'il pourra y être commercialisé. Aussi, ce vaccin a été testé chez les enfants de 5 à 15 ans (Comstedt et coll. 2017, Valneva 2022). Ce vaccin risque toutefois de présenter les mêmes limites que tous les vaccins ciblant Osp A notamment le besoin de rappels fréquents pour conserver des titres d'anticorps qui garantissent la neutralisation et l'élimination de *B. burgdorferi* dans l'intestin des tiques prenant leur repas.

Le développement de nouvelles stratégies vaccinales contre la ML constitue un champ intensif et prometteur de recherche. Dans leur revue du sujet, Schuijt et collaborateurs (2011) en identifie 6. La première stratégie consiste à cibler des antigènes, autres que Osp A ou Osp C,

localisés à la surface de *B. burgdorferi* comme les protéines liant la décorine (Dpb¹³) A et B (Shi et coll. 2008). La seconde est d'immuniser contre des protéines de l'épithélium digestif de la tique, comme TROSPA ou la protéine analogue de la dystroglycane (ISDLP¹⁴), pour interférer avec la prise du repas sanguin (Klouwens et coll. 2016). Une troisième stratégie est de combiner les stratégies 1 et 2. Les 3 dernières stratégies ciblent les protéines salivaires excrétées par *I. scapularis* soit 1- les protéines qui modulent la réponse immunitaire de l'hôte, 2- celles qui inhibent la défense de l'hôte, et 3- celles qui favorise la transmission de *B. burgdorferi*. À ce jour, de nombreux antigènes associés à cette dernière stratégie ont été identifiés parmi lesquels se trouvent la protéine salivaire anti-complément (Isac¹⁵) 1, Salp15, Salp20, l'inhibiteur du facteur de coagulation Xa (Tix¹⁶) 5, et les facteurs de libération de l'histamine (tHRF¹⁷) (Klouwens et coll. 2016).

Réduire l'exposition aux tiques et la transmission de l'infection

Pour réduire l'exposition aux tiques, il est possible d'agir par le biais de l'aménagement du paysage et en influençant les comportements humains. Réduire l'exposition aux tiques et la transmission de l'infection à l'échelle d'un humain peut être accomplie en : 1- évitant dans la mesure du possible l'habitat de la tique *I. scapularis*, 2- appliquant des produits acarifuges, 3- portant un habillement adéquat durant l'exposition à un environnement à risque et 4- s'inspectant, et retirant rapidement les tiques qui ont piquées pour réduire la probabilité de transmission de l'agent infectieux (Tableau 4). Ces mesures de prévention à l'échelle de la santé

¹³ Abréviation de *Decorin-binding protein*

¹⁴ Abréviation de *Ixodes scapularis dystroglycan-like protein*

¹⁵ Abréviation de *Ixodes scapularis salivary anticomplement*

¹⁶ Abréviation de *Tick inhibitor of factor Xa*

¹⁷ Abréviation de *tick histamine release factor*

publique s'inscrivent dans des interventions visant à augmenter la connaissance du risque de ML dans la population et à promouvoir l'adoption de mesures de préventions individuelles par le biais d'activités de transfert de connaissances ou de campagnes de sensibilisation (Harymann et coll. 2014, Aenishaenslin et coll. 2016a).

Les actions ciblant le paysage visent à réduire les occurrences d'exposition des humains s'adonnant à des activités extérieures dans un environnement à risque (Tableau 4). Ces mesures visent deux objectifs soit 1- limiter les intrants de tiques en provenance de leur habitat et 2- créer un environnement défavorable à la survie d'une tique s'étant introduite hors de son habitat (Eisen 2021). Dans un environnement forestier, de telles approches consisteraient à aménager des sentiers à l'aide de matière inerte, à bien délimiter l'habitat de la tique de celui où l'humain effectue ses randonnées et à retirer les feuilles mortes.

Dans un environnement péri-domestique, certaines mesures comme le retrait des habitats propices à l'installation des rongeurs et l'installation de clôtures limitant l'accès aux cerfs de Virginie se sont montrés efficaces (Stafford 1993, Del Fabbro 2015). Garder la pelouse bien tondue serait également associé à une réduction importante de la présence des tiques hors de leur habitat (Del Fabbro 2015). Parmi les mesures plus extensives se trouvent l'aménagement des terrains à l'aide de matériaux inertes comme la pierre, le béton et l'asphalte ou l'aménagement de jardins xérophiles, c'est-à-dire qui favorise un milieu sec peu propice à la survie des tiques (Stafford 2004). Il existe toutefois des études n'ayant montré aucun effet protecteur des mesures d'aménagement paysager sur le risque de ML. Connally et collaborateurs (2009), par exemple, ont montré un effet protecteur de certaines mesures comportementales comme l'auto-inspection, l'application d'acarifuge et le fait de prendre un

bain ou une douche, mais n'ont vu aucun effet des mesures modifiant l'environnement testées dans leur étude.

Réduire la densité de tiques infectées par *Borrelia burgdorferi*

Pour réduire la DIT dans l'environnement, plusieurs cibles sont disponibles soit 1- l'habitat, 2- les tiques elles-mêmes, 3- les hôtes reproducteurs de la tique *I. scapularis* et 4-les réservoirs de *B. burgdorferi*. Les stratégies 1, 2 et 3 agissent par le biais d'une réduction de la DOT alors que la 4^e stratégie a le potentiel d'affecter la DOT et la TIP (Eisen 2023). Parmi les mesures visant à altérer l'habitat de la tique, le retrait de la litière de feuilles mortes à l'aide d'un souffleur à feuille ou le fait de brûler des territoires boisés a permis de réduire la DOT de 50 à 100 % (Mather et coll. 1993, Schulze et coll. 1995, Gleim et coll. 2014). Certains aménagements xérophiles¹⁸ ou avec des matériaux inertes, si réalisés à grande échelle, peuvent être considérés comme des approches visant à réduire la DOT (Tableau 4).

Pour cibler directement les tiques dans l'environnement, des acaricides chimiques (organophosphorés, carbamates ou pyréthroïdes), des produits d'origine végétale (nootkatone, carvacrol ou huiles essentielles) ou des fungi acaropathogènes (*Beauveria bassiana*, *Metarhizium brunneum*, *M. annisopliae*) sont appliqués sur le sol et la végétation (Ostfeld et coll. 2006b, Eisen & Dolan 2016). Le recours à ces approches ne montre qu'une efficacité variable à réduire la DOT, d'aucun effet à 100 % de réduction, selon le produit utilisé ou le protocole d'application (Eisen & Dolan 2016). L'application d'acaricides à grande échelle est toutefois reconnue comme la mesure la plus efficace de réduction de la DOT (Eisen & Dolan

¹⁸ Aménagement paysager favorisant un milieu sec.

2016, Eisen & Stafford 2020). Récemment, Hinckley et collaborateurs (2016) ont appliqué de la bifenthrine sur des résidences ce qui a provoqué une réduction de 60 % de la densité de nymphes en quête (DON¹⁹).

Pour traiter les cerfs avec des acaricides, les approches ont utilisé des appâts oraux, des dispositifs permettant l'application de produit topique, dit *4-poster*, ou des colliers (Tableau 5) (Pound et coll. 2000, Stafford & Williams 2017). Les données concernant ces approches sont dominées par une série d'études états-uniennes qui ont testé des *4-poster* administrant 2 % d'amitraz topique aux cerfs (Tableau 5). Ces études montrent une réduction de la DON > 50 % (Tableau 5). À l'opposé, Grear et collaborateurs (2014) ont observé 8 % de réduction de la DOT alors que Rand et collaborateurs (2020) n'ont détecté aucun effet significatif (Tableau 5). Cette dernière étude est notable puisque l'absence d'effet sur les tiques en quête est observée alors qu'une efficacité marquée est notée sur les tiques infestant les cerfs (Rand et coll. 2000).

Pour cibler les réservoirs de *B. burgdorferi*, les approches se concentrent essentiellement sur les souris du genre *Peromyscus*. Trois stratégies ont été utilisées à ce jour, soit la distribution de produits acaricide, l'application de fongi acaropathogènes et la vaccination contre *B. burgdorferi* (Tableau 6). Les approches décrites dans la littérature utilisant des acaricides se sont concentrées sur l'application de produits topiques, contenant du fipronil ou de la perméthrine, par le biais de ouates ou de matériels de nichage imbibés (Mather et coll. 1988, Dolan et coll. 2004, Jordan & Schulze 2019). Les études utilisant ces approches ont des résultats contradictoires ; certaines ont réduit la DIT, par le biais d'un effet sur la DOT et la TIP, dans les

¹⁹ Abréviation de *Density of questing nymphs*

sites traités (Tableau 6). D'autres approches ont utilisé des vaccins ciblant l'antigène Osp A (Tsao et coll. 2001, Tsao et coll. 2004, Gomes-Solecki 2014, Richer et coll. 2014). Ces approches ne provoquent qu'une réduction de la TIP par le biais d'une réduction de la prévalence de souris infectées (PIM²⁰) par *B. burgdorferi* (Tableau 6). L'administration de doxycycline aux micromammifères est une autre approche notable de cette catégorie (Eisen & Dolan 2016, Dolan et coll. 2017). Ces antibiotiques agissent suivant le même mécanisme que les vaccins (Dolan et coll. 2017).

Enjeux des approches ciblant les tiques infectées par *Borrelia burgdorferi*

L'utilisation d'approches ciblant la DIT dans l'environnement présente un ensemble d'enjeux de nature opérationnelle, écologique et sociale. Pour ces derniers enjeux, Aenishaenslin et collaborateurs (2015, 2016b) ont mis en évidence l'importance de l'acceptabilité sociale, de la perception du risque et de l'efficacité perçue sur l'adhésion aux mesures de contrôle des tiques. Les études rapportent notamment l'avis négatif que soulève, chez certains groupes de citoyens, l'application d'acaricides et les mesures visant à altérer l'habitat à grande échelle (Aenishaenslin et coll. 2016b). Il est probable que l'efficacité de mesures visant la DIT soit liée à l'adhésion des citoyens étant donné qu'il est communément reconnu que la responsabilité de la gestion des tiques dans l'environnement est la responsabilité des individus à l'échelle de leur résidence (Eisen & Stafford 2020). Deux faits pouvant mitiger l'efficacité des interventions dans la mesure où ladite efficacité serait sensible à la distribution spatiale du traitement.

²⁰ Abréviation de *Prevalence of infected mice*

Les enjeux écologiques concernent l'interaction entre les déterminants écologiques du cycle endémique de *B. burgdorferi*, incluant le cycle de vie de la tique *I. scapularis*, et le mécanisme d'action des approches. L'effet des interventions sur différents paramètres du cycle de transmission est résumé au tableau 7. Parmi les limites notables, on note le délai entre le début de l'application des mesures ciblant les hôtes et l'observation d'un effet dans l'environnement (Eisen & Dolan 2016, Eisen 2023). Pour les approches ciblant les réservoirs de *B. burgdorferi*, l'effet sur la DIN est observé un an après le début de l'intervention (Eisen & Dolan 2016, Eisen 2023). Il faut également un délai, qui peut s'étendre jusqu'à 3 ans, avant de voir l'effet des approches ciblant les cerfs sur les tiques dans l'environnement (Eisen & Dolan 2016). Les premières années suivant la réduction de la densité des populations de cerfs peuvent également être associées à une hausse de la DIT (Rand et coll. 2000). Ces inconvénients ne sont pas présents pour l'application d'acaricides ou de fongis acaropathogènes et pour les mesures visant l'altération de l'habitat de la tique (Eisen & Dolan 2016, Eisen 2023). Un autre déterminant écologique pouvant moduler l'effet des approches ciblant les réservoirs de *B. burgdorferi* est la composition de la communauté d'hôte. La présence dans l'environnement de réservoirs échappant au traitement et nourrissant une fraction significative de tique peut mitiger l'effet de telles approches (Tsao et coll. 2004, Eisen 2023).

Les enjeux opérationnels concernent tout ce qui est lié à la livraison d'une intervention. Sans tomber dans une revue exhaustive de ces enjeux, il est important de mentionner qu'ils peuvent avoir un impact important sur l'efficacité des différentes approches (Eisen & Dolan 2016). Pour les approches ciblant les hôtes ou les réservoirs, l'intensité du traitement est importante. Dans le cas des approches utilisant des *4-poster*, par exemple, la densité de dispositif d'application du

traitement serait associée à leur efficacité (Stafford & Williams 2017). Des hypothèses similaires ont été émises en ce qui concerne les approches ciblant les réservoirs (Jordan & Schulze 2019). Dans le cas des méthodes de réduction de la densité de cerfs, l'élimination d'une proportion importante de la population serait nécessaire pour obtenir un effet ce qui est difficilement réalisable lorsque la connectivité du paysage est élevée (Stafford & Williams 2017). L'efficacité des méthodes appliquant des acaricides dans l'environnement est également soumise à des limites liées aux protocoles de traitement. Elle serait dépendante de la pression avec laquelle le produit est appliqué et de la formulation du produit (Eisen & Dolan 2016).

Il est également important de noter que les approches ciblant la DIT ont, en plus des enjeux soulevés précédemment, des effets adverses qui peuvent imposer des limites à leur utilisation. Parmi celles-ci, on compte sans s'y limiter l'effet des acaricides sur des cibles autres que les tiques si appliquées à large échelle, l'effet sur la transmission des maladies des cervidés des 4-*poster* qui tendent à agglutiner les cerfs d'une même source de nourriture ou la sélection d'espèces de *B. burgdorferi* résistante aux antibiotiques s'ils sont administrés à dose sous thérapeutiques aux micromammifères (Eisen & Dolan 2016, Ginsberg et coll. 2017, Stafford & Williams 2017).

Les enjeux et limites décrites dans cette section orientent les recherches vers des interventions intégrant différentes approches qui visent à réduire la DIT (Eisen 2021). De telles interventions auraient pour avantages de créer une synergie entre les mécanismes d'action, d'amenuiser les enjeux spécifiques à leur utilisation indépendante et d'en limiter les effets indésirables. La littérature existante relate certaines études ayant testé des interventions combinant des approches ciblant les réservoirs de *B. burgdorferi*, les hôtes-reproducteurs d'*I. scapularis*, les

tiques elles-mêmes et ayant recours à la modification de l'habitat (Schulze et coll. 2007, Williams et coll. 2018b, Williams et coll. 2018a, Mandli et coll. 2021, Linske et coll. 2022). Récemment, Mandli et collaborateurs (2021) ont combiné la gestion de la végétation et la distribution d'un traitement acaricide à base de perméthrine aux micromammifères. Les deux interventions se sont montrées efficaces, mais aucun effet synergique n'a été observé lorsque les deux approches étaient combinées (Mandli et coll. 2021).

Tableau 4. Les mesures de prévention individuelle et d'aménagement paysager

Type de mesures	Mesures	Descriptions
Comportementales	Acarifuges	DEET toutes les 3 heures si 10 % et toutes les 6 heures si 30 % Icaridine toutes les 3-5 heures si 10 % et toutes les 8-10 heures si 20 %
	Habillements	Porter des vêtements longs Idéalement, de couleur claire pour visualiser les tiques qui s'y seraient accrochées Chaussette recouvrant le bas des pantalons et chandail à manches moulantes Si disponible, traité avec un acaricide comme la perméthrine
	Après l'exposition	Prendre un bain ou une douche après l'exposition à un environnement à risque Auto-inspection corporelle après l'exposition à un environnement à risque Retrait rapide d'une tique ayant piqué
Aménagement paysager	Réduire les intrants de tiques	Barrière excluant les cerfs de virginie Bordure de roche ou de copeau de bois pour limiter l'accès aux micromammifères Éloignement de la résidence ou retrait des amoncellements de bois ou de roches fournissant un habitat sécuritaire aux micromammifères Distinguer les zones d'activités humaines de l'habitat de la tique
	Réduire l'habitat de la tique	Garder le gazon bien tondu Retirer les feuilles mortes Favoriser l'exposition du terrain aux rayons du soleil et un environnement sec : <ul style="list-style-type: none"> • Jardins xérophiles • Matériaux inertes

DEET = N,N-Diethyl-3-methylbenzamide.

Note : inspiré de Stafford (2004), Eisen & Dolan (2016), Eisen (2021).

Tableau 5. Synthèse des études ciblant les cerfs avec des acaricides et de leur effet significatif sur les populations de tique *I. scapularis*

Produits	Administration	Études	Résultats
Ivermectine	Orale (appâts)	Rand et coll. (2000)	↓ >90 % FT sur les cerfs traités – FT sur les micromammifères – DOT
Amitraz 2 %	Topique (<i>4-poster</i>)	Carroll et coll. (2002) Pound et coll. (2009) Miller et coll. (2009) Stafford et coll. (2009) Daniels et coll. (2009) Schulze et coll. (2009) Carroll et coll. (2009) Brei et coll. (2009)	↓ DOT : ↓ 76-80 % DON ↓ DOT : ↓ 60-82 % DON ↓ DOT : ↓ 50% DON ↓ DOT : ↓ 46-70% DON & ↓ 19% DOA ↓ DOT : ↓ 55-80% DON ↓ DOT : ↓ 83% DQL, ↓ 77% DON & ↓ 94% DOA, ↓ DOT : ↓ 69-80% DON ↓ DOT : ↓ 71% DON
Perméthrine 10 %	Topique (<i>4-poster</i>)	Solberg et coll. (2003) Curtis et coll. (2011) Gear et coll. (2014)	↓ 100 % FT sur les cerfs ↓ DOT : ↓ 91-100% DON & ↓ DOA ↓ 70-95 % FT sur les micromammifères ↓ DOT ↓ 8% DOT

DOA = densité d'adultes en quête ; DQL = densité de larves en quête ; DON = densité de nymphes en quête ; DOT = densité de tiques en quête ; FT = tiques prenant leur repas sur un hôte.

Note : Inspiré de Stafford & Williams (2017)

Tableau 6. Synthèse des études ciblant les micromammifères et de leur effet significatif sur les populations de tique *I. scapularis*

Produits	Administration	Études	Résultats
Perméthrine	Topique (matériel nichage)	Mather et coll. (1987)	↓ FT sur les micromammifères traités
		Mather et coll. (1988)	↓ 97 % des micromammifères avec des FT ↓ 97 % DIN : ↓ 88 % DON & ↓ 22 % NIP
		Deblinger & Rimmer (1991)	↓ 100 % FT sur les micromammifères traités ↓ DIN : ↓ 99 % DON
		Daniels et coll. (1991)	↓ 13-65 % FT sur les micromammifères traités – DIN : – DON
		Stafford (1991, 1992b)	↓ 37-92 % FT sur les micromammifères traités ↓ 51 % FT des micromammifères avec des FT – DIN
		Ginsberg (1992)	↓ 100 % FT sur les micromammifères traités – DIN ↓ DIA : ↓ DOA & – AIP (variables selon les sites)
		Jordan & Schulze (2019)	↓ FT sur les micromammifères traités – DIN: – DON
		Brown et coll. (2020) Mandli et coll. (2021)	↓ 100 % FT sur les micromammifères traités ↓ 66 % DIN : ↓ 55 % DON
Fipronil	Topique (ouates imbibées)	Dolan et coll. (2004)	↓ 45-96 % FT sur les micromammifères traités ↓ DIN : ↓ 80-96 % DON et ↓ 16 % NIP ↓ DIA : ↓ 70-98 % DOA et ↓ 13-15 % AIP ↓ 87 % PIM
		Schulze et coll. (2017)	↓ 84-100 % FT sur les micromammifères traités ↓ 89-97 % DON
		Dolan et coll. (2017) ^A	↓ 38-94 % FT sur les micromammifères traités ↓ DIN : ↓ 77-94 % DON et ↓ 17-91 % NIP ↓ 34-63%PIM
		Jordan & Schulze (2019)	↓ FT sur les micromammifères traités ↓ DIN : ↓ 79-84 % DON
		Hinckley et coll. (2021) Keesing et coll. (2022)	– DIT : – DOT & – TIP ↓ 50 % FT sur les micromammifères traités ↓ > 50 % DON
		Hornbostel et coll. (2005)	↑ 40 % mortalité des FL décrochées ↓ 50 % FN sur les micromammifères traités – DIN
Vaccin (Osp A)	Injection Orale	Tsao et coll. (2004)	↓ 19-25 % NIP ↓ 42 % PIM
		Richer et coll. (2014) Stafford et coll. (2020)	↓ 23 % NIP ↓ ≈10-15 % PIM ↓ 30 % prévalence de souris avec >1 FL infecté

DIA = densité d'adultes infectées par *B. burgdorferi* ; DIN = densité de nymphes infectées par *B.*

burgdorferi ; DOA = densité d'adultes en quête ; DON = densité de nymphes en quête ; DOT =

densité de tiques en quête ; FL = larves prenant leur repas sur un hôte ; FT = tiques prenant leur repas sur un hôte ; PIM = prévalence de micromammifères infectés par *B. burgdorferi* ; AIP = prévalence d'adultes infectées par *B. burgdorferi* ; NIP = prévalence de nymphes infectées par *B. burgdorferi* ; TIP = prévalence de tiques infectées par *B. burgdorferi*.

^ADans le cadre de cette étude, l'appât contenait de la doxycycline.

Tableau 7. L'effet des différentes approches visant à réduire la densité de tiques infectées par *B. burgdorferi* dans l'environnement

Cibles	Approches	Délai	Effet sur les réservoirs		Effet sur <i>I. scapularis</i>	
			Infestation ^A	Infection ^B	Densité	Infection ^B
Tique	Acaricides	Non	Non	Non	Oui	Non
	Fongi acaropathogènes	Non	Non	Non	Oui	Non
	Altération de l'habitat	Non	Non	Non	Oui	Non
Hôte reproducteur (cerfs)	Acaricides	Oui	Non	Non	Oui	Non
	Réduction de la densité	Oui	Non	Non	Oui	Non
Réservoirs (micromammifères)	Acaricides	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
	Vaccin	Oui	Non	Oui	Non	Oui
	Fongi acaropathogènes	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui

Note : inspiré de Eisen (2023)

^AInfestation par les larves et les nymphes d'*I. scapularis*.

^BInfection par *B. burgdorferi*.

Les acaricides

Les différentes familles

L'*Insecticide resistance action committee* (IRAC) classe les familles d'acaricides-insecticides en 28 groupes selon leur mécanisme d'action agissant sur 16 cibles différentes. L'ensemble des familles ayant un effet acaricide dont le mécanisme est connu est résumé au tableau 8. Sur l'ensemble des familles répertoriées, seulement 4 familles ont été utilisées dans le cadre d'intervention ciblant les hôtes de la tique *I. scapularis* ou les réservoirs de *B. burgdorferi* soit l'amtiaz, les avermectines, les phénylpyrazoles et les pyréthrinés ou pyréthroïdes (Tableau 5 & 6). Seul le principal agent de la famille des phénylpyrazoles, le fipronil, et la perméthrine, de la famille des pyréthroïdes/pyréthrinés, ont été utilisés dans le cadre d'intervention ciblant les micromammifères (Tableau 6). La perméthrine est une molécule agissant comme modulatrice non compétitive des canaux sodiques voltages dépendant des neurones des arthropodes (Whalon et coll. 2008). En se liant à son site actif, elle conserve les canaux en position ouverte ce qui empêche les neurones de se repolariser (Whalon et coll. 2008). Bien que son effet soit principalement acaricide, elle a également un effet acarifuge (Young & Evans 1998). Comme elle agit par le biais d'un contact avec une surface traitée, certains arthropodes subissant les effets toxiques vont s'éloigner avant de subir l'effet létal. Le fipronil est un antagoniste des récepteurs liés aux canaux chloriques de l'acide gamma-aminobutyrique (GABACIR²¹) (Whalon et coll. 2008). En se liant à son site actif, il inhibe l'ouverture des canaux chloriques et interagit avec le mécanisme de dépolarisation des neurones (Prullage et coll. 2011). Il en résulte une paralysie

²¹ Abréviation de *γ-aminobutyric acid-gated chloride channels receptor*

rigide ou un effet convulsivant. Contrairement à la perméthrine, le fipronil est un acaricide à action systémique, donc pour être actif, il doit être ingéré par les arthropodes pour produire un effet toxique (Young & Evans 1998, Simon-Delso et coll. 2015).

Les isoxazolines

Développement, commercialisation et pharmacodynamique

En cette nouvelle ère de développement des acaricides et insecticides, de nouvelles familles de molécules avec des mécanismes d'action différents sont homologuées chaque année (Sparks et coll. 2019). Parmi ces nouvelles familles se trouve la famille des isoxazolines dont la commercialisation s'est effectuée sur le marché des médicaments vétérinaires dès 2014 (Sparks et coll. 2019, Zhou X. et coll. 2021). À leur début, le développement des isoxazolines découle d'études consacrées aux diamides phtaliques et anthraniliques ; des insecticides activant les récepteurs de la ryanodine (RyR) (Casida 2015). Les premières isoxazolines avec des effets insecticides et acaricides significatifs ont été développées par des chercheurs japonais et états-uniens (Ozoe et coll. 2010).

À ce jour, quatre isoxazolines sont utilisées dans des produits destinés à un usage vétérinaire soit l'afoxolaner, le fluralaner, le lotilaner et le sarolaner (Zhou X. et coll. 2021). Les produits à base d'isoxazolines sont homologués principalement pour prévenir les infestations de puces et les piqûres de tiques (Zhou X. et coll. 2021). Les isoxazolines agissent comme antagoniste non compétitif des récepteurs liés aux canaux chloriques du glutamate (GluClR²²) et des GABACIR (García-Reynaga et coll. 2013). Cependant, leur mécanisme principal serait lié à l'inhibition de

²² Abréviation de *Glutamate-gated chloride channels receptor*

l'ouverture des canaux chloriques liés à GABACIR (Gassel et coll. 2014, Shoop et coll. 2014). Les isoxazolines partagent ce mécanisme d'action avec d'autres acaricides comme le fipronil. Le site actif des isoxazolines serait toutefois différent de celui du fipronil (Casida & Durkin 2015). Les isoxazolines montrent également une affinité élevée pour les récepteurs des arthropodes, tiques et insectes, lorsque comparés à des récepteurs mammaliens ce qui explique qu'elles ont un intervalle thérapeutique élevé, lorsqu'utilisées chez les mammifères (Gassel et coll. 2014).

Efficacité

L'efficacité d'un médicament se définit comme sa capacité à atteindre l'objectif pour lequel il est administré. Dans le cadre de cette thèse, il s'agit principalement de la capacité d'un acaricide à tuer les tiques infestant leur hôte. Il est toutefois possible de décliner cette efficacité selon différents paramètres : 1- l'action (ou effet) immédiate et 2- l'action (ou effet) résiduelle (Marchiondo et coll. 2007). Il est possible de mesurer le premier paramètre à l'aide de deux variables : la rapidité d'action²³ et la rapidité d'effet^{24 25} (Burgio et coll. 2016).

La rapidité d'action constitue le temps entre l'administration du médicament et l'observation de l'effet acaricide, c'est-à-dire une réduction significative de l'infestation d'un groupe traité en comparaison à un groupe contrôle (Taenzler et coll. 2014). La rapidité d'effet représente le temps que met le médicament à atteindre un seuil prédéterminé d'efficacité (Marchiondo et coll. 2007). Le deuxième paramètre est principalement mesuré par la durée d'effet soit la

²³ Traduction d'*Onset of activity*

²⁴ Traduction de *speed of kill*

²⁵ À ce stade, il est important de distinguer la notion d'effet de celle d'action. L'action se définit comme l'observation d'une réduction statistiquement significative de l'infestation d'un groupe traité par rapport à un groupe contrôle alors que l'effet correspond à l'atteinte d'un seuil d'efficacité prédéterminée (par exemple > 90 % de tiques tuées lorsque l'on compare un groupe traité à un groupe contrôle).

période pendant laquelle l'acaricide montre une efficacité au-delà d'un seuil prédéterminé (Marchiondo et coll. 2007). Pour les tiques, un seuil > 90 % de tiques tuées dans un groupe traité en comparaison à un groupe contrôle est fréquemment utilisé (Marchiondo et coll. 2007, Burgio et coll. 2016).

L'ensemble des isoxazolines montre une rapidité d'effet lorsque testé contre différentes espèces de tiques inférieure à 12 heures (Tableau 9). La durée d'effet varie cependant selon le produit utilisé et l'espèce de tiques ciblée (Tableau 9). À ce titre, l'étude de Wengenmayer et collaborateurs (2014) est notable puisqu'elle rapporte une rapidité d'effet, efficacité à tuer plus de 90 % des tiques adultes de l'espèce *I. ricinus*, du fluralaner après une dose orale unique de 25 mg/kg chez le chien de 3 mois. Cette étude montre également la plus longue durée d'action d'une isoxazoline puisque le fluralaner réduit l'infestation des chiens de plus de 90 %, 24 h après l'administration du traitement pour une durée de plus de trois mois (Wengenmayer et coll. 2014).

L'efficacité peut aussi être mesurée par la capacité du médicament à réduire la transmission d'un agent infectieux de la tique vers son hôte. Comme un délai est nécessaire, un produit acaricide, pour réduire ou empêcher la transmission d'un agent infectieux, doit présenter une rapidité d'effet inférieure à son temps de transmission. Même si la rapidité d'action de toutes les isoxazolines semble suffisante pour atteindre cet objectif, notamment dans les 8 premières semaines suivant l'administration d'une dose unique, pour le moment, seulement l'afoxolaner et le sarolaner ont montré cette capacité contre *B. burgdorferi* dans des études expérimentales effectuées en laboratoire (Baker et coll. 2016, Honsberger et coll. 2016) (Tableau 9).

Pharmacocinétique

La pharmacocinétique (PK) s'intéresse à l'absorption, la distribution et l'élimination des molécules thérapeutiques au sein d'un organisme. Les isoxazolines sont rapidement absorbées par la muqueuse intestinale lorsqu'administrées oralement (Kilp et coll. 2014, Toutain et coll. 2017). Leur biodisponibilité est variable selon la molécule et la dose administrée. Des valeurs de 20-40 % sont rapportées dans le cas du fluralaner voire >70 % dans le cas de l'afoxolaner, du lotilaner et du sarolaner (Kilp et coll. 2014, Letendre et coll. 2014, McTier et coll. 2016, Toutain et coll. 2017, 2018). Dans le cas du fluralaner et du lotilaner, elle est augmentée lorsque le produit est administré conjointement avec de la nourriture (Walther et coll. 2014b, Toutain et coll. 2017).

Les propriétés hydrophobes des isoxazolines leur confèrent un volume de distribution élevé : \approx 3L/kg pour l'afoxolaner, le fluralaner et le sarolaner alors qu'il se situe à 6L/kg pour le lotilaner (Zhou X. et coll. 2021). Ces caractéristiques expliqueraient la persistance des isoxazolines dans l'organisme des animaux traités et leur longue durée d'action. Ces molécules sont également liées dans une proportion de > 99 % aux protéines du plasma sanguin ce qui explique que leur lente élimination est majoritairement effectuée par le foie (Kilp et coll. 2014, Letendre et coll. 2014, McTier et coll. 2016, Toutain et coll. 2017).

La demi-vie ($t_{1/2}$) plasmatique terminale d'une molécule est définie comme le temps nécessaire à la diminution de 50% de la concentration plasmatique (C_p) dans l'organisme (Toutain & Bousquet-Mélou 2004). L'efficacité des isoxazolines à tuer les tiques est associée à leur C_p dans le sang des animaux traités (Letendre et coll. 2014). La $t_{1/2}$ devient donc un paramètre PK important permettant de comprendre la durée d'effet des isoxazolines. La $t_{1/2}$ des isoxazolines

est en moyenne de 2 à 3 semaines chez les animaux domestiques comme le chien et le chat, sauf celle du lotilaner qui s'étend jusqu'à 30 jours dans le cas d'une administration orale (Tableau 10). Lors d'administration topique, la $t_{1/2}$ serait prolongée par une absorption plus lente des produits (Kilp et coll. 2016).

Toxicologie

Les isoxazolines ont un index thérapeutique élevé ce qui signifie qu'elles causent peu d'effet toxique, lorsqu'administré à des doses plusieurs fois supérieures à la dose minimale efficace et à fréquence plus élevée que recommandé (Drag et coll. 2014, Walther et coll. 2014a, Kuntz & Kammanadiminti 2017, 2018). Ce fait est supporté par des doses létales très élevées chez le rat lors du développement des produits aujourd'hui commercialisés (*Committee for Veterinary Medicinal Products* (CVMP) 2013, 2014, 2017b). Le fluralaner a également été montré sécuritaire lorsqu'utilisé chez une race de chien sensible à la toxicité par des classes de molécules ayant un mécanisme d'action similaire à celui des isoxazolines (Walther et coll. 2014c). Les effets secondaires rapportés des isoxazolines sont la diarrhée, des vomissements, de la salivation excessive, la perte d'appétit, le prurit, des tremblements, de l'ataxie et des convulsions (CVMP 2017a, 2021, *Food and Drug Administration* (FDA) 2019). Parmi les effets précédents, les symptômes neurologiques sont les plus graves (Gaens et coll. 2019).

Ces complications sont toutefois considérées comme rares (1-10 cas par 10 000 animaux traités) à l'exception de certains signes cliniques bénins d'ordre digestif ou cutané qui sont plutôt communs (1-10 cas par 100 animaux traités) (CVMP 2017a, 2021). Dans un sondage fait auprès des propriétaires d'animaux, Palmieri et collaborateurs (2020) rapportent une plus grande fréquence d'effets adverses graves comme de l'ataxie, des tremblements ou des convulsions.

L'étude rapporte cependant des témoignages de propriétaires d'animaux et le lien de causalité entre l'administration des médicaments contenant des isoxazolines et les symptômes observés n'a pas été établi (Palmieri et coll. 2020).

Tableau 8. Les familles d'acarides par cible et mécanisme d'action

Cible	Mécanisme d'action	Familles
ACCase	Inhibiteur	Dérivés de l'acide tétronique
AchE	Inhibiteur	Carbamates Organophosphorés
Hormones juvéniles	Analogues	Fénoxycarbe Pyriproxifène Sesquiterpènes
GABACIR	Inhibiteurs non-compétitifs	Cyclodiènes organochlorés Phénylpyrazoles (fiproles)
GABACIR & GluClR	Modulateurs allostériques Inhibiteurs non-compétitifs	Avermectines/milbémycines Isoxazolines Métadiamines
MET-I	Bloqueur du transport d'électrons	Pyridaben Roténone (Derris)
MET-II	Bloqueur du transport d'électrons	Dérivés du β -kétonitrile Carboxilines
MET-III	Bloqueur du transport d'électrons	Acéquinocyle, bifénazate, hydraméthylone, flurapyrime
MET-IV	Bloqueur du transport d'électrons	Cyanides Phosphides
NaCh	Bloqueurs Modulateurs	Oxadiazines Semicarbazènes DDT/Méthoxychlore Pyréthroïdes/Pyréthrines
nACh-R	Bloqueur Modulateurs compétitifs	Nereistoxine Buténolides Mésoioniques Néonicotinoïdes Nicotine Sulfoximines
OA	Modulateurs allostériques	Spinosynes
Synthèse de l'ATP	Agonistes Inhibiteurs	Amitraz Diafenthuiros Organostanniques Propargite Trétradifon
Développement	Perturbation du gradient de protons Perturbateur de la mue - agonistes de EcR Perturbateur de la mue - autres Synthèse de la chitine	Pyrroles Diacylhydrazines Cyromazine Benzolurées Buprofézine Etoxazole Hexythiazox Lufénuron
Ry-R	Modulateurs	Diamides

ACCase = Acétyl-CoA carboxylase; AchE = Acétylcholine estérase; ATP = adénosine triphosphate ; DDT = Dichlorodiphényltrichloroéthane ; EcR = récepteur de l'Ecdysone ; GABACIR = récepteur de l'acide γ -aminobutyrique lié aux canaux chloriques ; GluClR = récepteur du glutamate lié aux canaux chloriques ; MIT = Complexe mitochondrial de transport d'électrons ; NaCh = canal sodique voltage dépendant ; nAch-R = récepteur nicotinique de l'acétylcholine ; OA = Agoniste octapinergique ; Ry-R = récepteur de la ryanodine

Note : adapté de Nauen et collaborateurs (2019) et Sparks et collaborateurs (2019).

Tableau 9. La rapidité et la durée d'effet des isoxazolines contre différentes espèces de tique après l'administration d'une unique dose

Molécules	Études	Espèce	Dose (mg/kg)	Tique	Rapidité ^A (h)	Durée ^B (jours)
Afoxolaner	Burgio et coll. (2016)	Chien	ND ^C	<i>R. sanguineus</i>	8	ND
	Cvejić et coll. (2017)	Chien	2,7-6,8	<i>R. sanguineus</i>	24	14
	Dumont et coll. (2014) ^D	Chien	2,7	<i>D. reticulatus</i>	48	30
				<i>I. ricinus</i>	48	30
	Halos et coll. (2014)	Chien	ND	<i>I. ricinus</i>	12	28
	Kunkle et coll. (2014) ^D	Chien	2,5-3,1	<i>R. sanguineus</i>	48	35
	Mitchell et coll. (2014b) ^D	Chien	2,6-4,0	<i>D. variabilis</i>	48	30
	Mitchell et coll. (2014a) ^D	Chien	2,5	<i>I. scapularis</i>	48	30
	Ohmes et coll. (2015) ^D	Chien	3,1-6,2	<i>A. americanum</i>	48	0
				<i>D. variabilis</i>	48	0
	Packianathan et coll. (2017)	Chien	2,7-6,9	<i>I. holocyclus</i>	12	35
	Six et coll. (2016a)	Chien	2-7	<i>A. americanum</i>	24	7
	Six et coll. (2016b)	Chien	2,5-6,8	<i>I. scapularis</i>	24	14
	Six et coll. (2016c)	Chien	2,5-6,8	<i>R. sanguineus</i>	12	7
	Fluralaner	Allen et coll. (2020) ^D	Chien	25	<i>A. americanum</i>	48
<i>R. sanguineus</i>					48	84
Becskei et coll. (2016b)		Chien	25-56	<i>R. sanguineus</i>	8	44
Burgio et coll. (2016)		Chien	ND	<i>R. sanguineus</i>	8	ND
Fisara & Webster (2015)		Chien	25	<i>I. holocyclus</i>	24	143
Fisara et coll. (2018)		Chat	40	<i>I. holocyclus</i>	24	84
Six et coll. (2016d)		Chien	25-56	<i>A. americanum</i>	24	0
Toyota et coll. (2019) ^D		Chien	10-50	<i>H. longicornis</i>	48	112 ^E
Wengenmayer et coll. (2014)		Chien	25	<i>I. ricinus</i>	8	84
Lotilaner		Baker et coll. (2018) ^D	Chien	20	<i>I. holocyclus</i>	48
	<i>D. reticulatus</i>				ND	37
	Cavalleri et coll. (2017)	Chien	20	<i>I. ricinus</i>	ND	37
				<i>R. sanguineus</i>	ND	37
				<i>I. ricinus</i>	12	35
Cavalleri et coll. (2018)	Chat	6	<i>I. ricinus</i>	12	35	

Tableau 9 (suite)

Molécules	Études	Espèce	Dose (mg/kg)	Tique	Rapidité ^A (h)	Durée ^B (jours)
Lotilaner	Murphy et coll. (2017b)	Chien	20	<i>A. americanum</i>	48	30
				<i>D. variabilis</i>	48	37
				<i>I. scapularis</i>	48	37
				<i>R. sanguineus</i>	48	37
Sarolaner	Murphy et coll. (2017a)	Chien	20	<i>I. ricinus</i>	8	35
	Otaki et coll. (2018) ^D	Chien	20	<i>H. longicornis</i>	48	37
	Becskei et coll. (2016a)	Chien	2-4	<i>D. reticulatus</i>	12	35
	Burgio et coll. (2016)	Chien	ND	<i>R. sanguineus</i>	8	ND
	Packianathan et coll. (2017)	Chien	2-4	<i>I. holocyclus</i>	24	35
	Six et coll. (2016e)	Chien	2	<i>A. maculatum</i>	8	35
				<i>I. cookei</i>	12	35
				<i>I. scapularis</i>	12	28
				<i>A. americanum</i>	24	21
	Six et coll. (2016a)	Chien	2-4	<i>A. americanum</i>	24	21
Six et coll. (2016b)	Chien	2-4	<i>I. scapularis</i>	24	35	
Six et coll. (2016c)	Chien	2-4	<i>R. sanguineus</i>	8	35	

^APremière valeur de temps à laquelle une proportion de tiques tuées > 90 % est observée dans un groupe traité en comparaison à un groupe contrôle lors de la première observation.

^BTemps de la dernière observation lors de laquelle une efficacité > 90 % a été observé.

^CNon-déterminé.

^DLors de cette étude, il n'y avait pas de comptes de tiques avant 48h.

^E86 jours pour la dose de 10 mg/kg.

Tableau 10. La demie-vie terminale des isoxazolines utilisées dans des produits commerciaux selon l'espèce et le mode d'administration

Molécules	Études	Espèces	Administration	Doses (mg/kg)	T _{1/2} terminale (jours) ^A
Afoxolaner	Letendre et coll. (2014)	Chien	Intraveineux	1	16
			Oral - consommation	1 ; 2,5 ; 4	15
Fluralaner	Kilp et coll. (2014)	Chien	Intraveineux	12,5	15
			Oral - consommation	12,5 ; 25 ; 50	13
	Kilp et coll. (2016)	Chats	Intraveineux	5	15
			Topique	20 ; 40 ; 80	25
Lotilaner	Toutain et coll. (2017)	Chien	Intraveineux	12,5	20
			Topiques	12,5 ; 25 ; 50	46
			Intraveineux	3	25
	Toutain et coll. (2018)	Chat	Oral - gavage	20	39
			Oral - consommation	20	31
			Intraveineux	3	29
Sarolaner	McTier et coll. (2016)	Chien	Oral - gavage	6	27
			Oral - consommation	6	34
			Oral - gavage	2	12

^ALorsque la t_{1/2} terminale est rapporté pour plusieurs groupes, par exemple lorsque plusieurs doses ont été testées lors d'une étude,

la moyenne pondérée des t_{1/2} de tous les groupes est rapportés.

Hypothèse et objectif

Hypothèse générale

La recension des écrits illustre le potentiel des isoxazolines comme principe actif pour traiter les mammifères contre les tiques. Cependant, leur utilisation pour réduire la DIT et le risque de transmission de la ML n'a jamais été étudiée. Considérant 1- que les souris jouent un rôle clé comme hôte principal des stades immatures d'*I. scapularis* tout en ayant le plus grand potentiel de transmission de *B. burgdorferi* dans les populations de tiques ; 2- que certaines études ayant ciblé les micromammifères avec des acaricides ont montré une réduction de la DIT par le biais de réductions de la DOT et de la TIP ; 3- que ces approches peuvent, par conséquent, agir à la fois sur la circulation endémique de *B. burgdorferi* et sur la densité de son vecteur ; 4- que les propriétés pharmacologiques des isoxazolines favorisent leur efficacité, leur longue durée d'action et leur faible toxicité, cette thèse repose sur l'hypothèse générale qu'une approche ciblant les réservoirs de *B. burgdorferi*, comme les souris du genre *Peromyscus*, avec des isoxazolines, comme le fluralaner, permettrait de réduire la DIT et conséquemment le risque de ML pour les humains. Une telle approche fournirait un outil supplémentaire en prévention primaire de la ML pour les populations humaines qui doivent faire face à l'émergence ou à la réémergence de cette problématique. Dans le cas des populations localisées plus au Nord, les recherches réalisées actuellement en zone à risque peuvent fournir des outils qui pourront être utilisés en cas d'éventuelle émergence.

Objectifs spécifiques

Pour tester cette hypothèse, cette thèse répond à 4 objectifs spécifiques dont chacun fait l'objet d'un chapitre (Tableau 11). D'abord, la validation de cette hypothèse est conditionnelle au fait que l'efficacité du fluralaner chez les animaux de compagnie se transpose chez les réservoirs de *B. burgdorferi*. C'est pourquoi le premier objectif de cette thèse consiste à **évaluer l'efficacité du fluralaner à réduire l'infestation de souris *Peromyscus* en laboratoire.**

Comme le mécanisme d'action et seul effet direct d'une telle approche sur le cycle de transmission de *B. burgdorferi* est son efficacité à tuer les tiques infestant ses principaux réservoirs, le deuxième objectif consiste à **quantifier l'efficacité du fluralaner administré sous forme d'appâts oraux à réduire l'infestation d'une population de réservoirs sauvages par les stades immatures de *B. burgdorferi*.** Le troisième objectif consiste à **déterminer l'effet du traitement sur le cycle endémique de *B. burgdorferi*.** Cet effet sera mesuré par le biais de trois paramètres : 1- la prévalence de souris *Peromyscus* infectées par *B. burgdorferi* (PIM), 2- la densité de nymphes en quête (DON), 3- la prévalence de nymphes infectées (NIP).

Finalement, le quatrième objectif consiste à **investiguer les propriétés pharmacologiques du fluralaner dans une population de souris *Peromyscus* puis à initier le développement d'un modèle pharmacocinétique.** Ce modèle permettrait d'estimer a priori les combinaisons de doses et de fréquences d'administration du fluralaner qui permettraient de protéger les micromammifères sauvages tout au long de la période d'activités des larves et des nymphes de l'espèce *I. scapularis*.

Tableau 11. Liste des objectifs spécifiques et chapitres correspondants

Objectifs spécifiques	Chapitre
Efficacité chez les souris <i>Peromyscus</i> spp.	Chapitre 1 - Evaluation of fluralaner as an oral acaricide to reduce tick infestation in a wild rodent reservoir of Lyme disease
Efficacité chez une population de réservoirs sauvages	Chapitre 2 - Fluralaner baits reduce the infestation of <i>Peromyscus</i> spp. mice (Rodentia: Cricetidae) by <i>Ixodes scapularis</i> (Acari: Ixodidae) larvae and nymphs in a natural environment
Effet sur le cycle endémique de <i>B. burgdorferi</i>	Chapitre 3 - The effect of fluralaner treatment of small mammals on the endemic cycle of <i>Borrelia burgdorferi</i> in a natural environment
Propriétés pharmacologiques et modélisation	Chapitre 4 - Pharmacological studies and mathematical modeling to support the development of interventions targeting ecological reservoirs of Lyme disease with acaricides

Chapitre 1 - Evaluation of fluralaner as an oral acaricide to reduce tick infestation in a wild rodent reservoir of Lyme disease²⁶

Jérôme Pelletier^{1,2,3}, Jean-Philippe Rocheleau^{2,4}, Cécile Aenishaenslin^{1,2,3}, Francis Beaudry⁵, Gabrielle Dimitri Masson^{1,2}, L. Robbin Lindsay⁶, Nicholas H. Ogden^{2,7}, Catherine Bouchard^{2,7} and Patrick A. Leighton^{1,2,3}

¹Département de pathologie et microbiologie, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada.

²Groupe de recherche en épidémiologie des zoonoses et santé publique, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada.

³Centre de Recherche en Santé Publique, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada.

⁴Département de santé animale, CÉGEP de Saint-Hyacinthe, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada.

⁵Groupe de recherche en pharmacologie animale, Département de biomédecine vétérinaire, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada.

⁶Zoonotic Diseases and Special Pathogens Division, National Microbiology Laboratory, Public Health Agency of Canada, Winnipeg, Manitoba, Canada.

⁷Public Health Risk Sciences Division, National Microbiology Laboratory, Public Health Agency of Canada, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada.

²⁶ Article publié dans le journal *Parasites and Vectors* 13, 73 (2020). <https://doi.org/10.1186/s13071-020-3932-7>

Abstract

Background: Lyme disease (LD) is an increasing public health threat in temperate zones of the northern hemisphere, yet relatively few methods exist for reducing LD risk in endemic areas. Disrupting the LD transmission cycle in nature is a promising avenue for risk reduction. This experimental study evaluated the efficacy of fluralaner, a recent oral acaricide with a long duration of effect in dogs, for killing *Ixodes scapularis* ticks in *Peromyscus maniculatus* mice, a known wildlife reservoir for *Borrelia burgdorferi* in nature.

Methods: We assigned 87 mice to 3 fluralaner treatment groups (50 mg/kg, 12.5 mg/kg and untreated control) administered as a single oral treatment. Mice were then infested with 20 *Ixodes scapularis* larvae at 2, 28, and 45 days post-treatment and we measured efficacy as the proportion of infesting larvae that died within 48 h. At each infestation, blood from 3 mice in each treatment group was tested to obtain fluralaner plasma concentrations (C_p).

Results: Treatment with 50 mg/kg and 12.5 mg/kg fluralaner killed 97% and 94% of infesting larvae 2 days post-treatment, but no significant effect of treatment on feeding larvae was observed 28 and 45 days post-treatment. Mouse C_p did not differ significantly between the two tested doses. Mean C_p decreased from 13,000 ng/ml in the 50 mg/kg group and 4000 ng/ml in the 12.5 mg/kg group at Day 2 to < 100 ng/ml in both groups at Day 45.

Conclusions: We provide the first evidence that fluralaner is effective for killing immature ticks in *Peromyscus* mice, a first step in evaluating its potential for treating wild rodents as a public health intervention to reduce LD risk in endemic areas.

Keywords: Lyme disease, Mice, Isoxazolines, Fluralaner, Ticks, *Ixodes scapularis*, *Peromyscus* spp.

Background

Lyme disease (LD), caused by the spirochete *Borrelia burgdorferi* [1], is the most important tick-borne disease in Europe and North America [2]. In the USA, the annual incidence rate was 7.2 reported cases per 100,000 people with 33,000 reported cases in 2018 alone [3]. In southern Canada, Lyme borreliosis is currently emerging, associated with the northward spread of the tick *Ixodes scapularis*, with the number of annual reported cases increasing from 144 in 2010 to 2025 in 2017 [4–6]. Because LD is a significant burden for public health, different strategies have been developed to prevent disease transmission to humans, including promoting the adoption of personal preventive measures and reducing tick density in the environment. Tick control measures include the direct application of acaricides in the environment or the treatment of the main tick hosts, such as the white-tailed deer, with oral or topical acaricides [7]. Another potential intervention approach is to treat key reservoirs of *B. burgdorferi*, such as *Peromyscus* spp. mice, to decrease the density of ticks in the environment and/or the prevalence of infection in questing ticks, both of which contribute to the density of infected ticks in the environment which is the main measure of the acarological risk of LD [7–9]. Oral vaccination of mice against *B. burgdorferi*'s outer surface protein A (Osp A) is reported in the literature as an effective way to reduce the prevalence of the spirochete among host seeking ticks [10, 11]. The application of topical acaricides to wild rodents using treatment stations has also been used to effectively reduce tick density in the environment [12–16].

In 2014, a novel ectoparasiticide family called isoxazolines reached the veterinary drug market. Isoxazolines are non-competitive inhibitors of γ -aminobutyric acid (GABA)- and L-glutamate-gated chloride channels (GABA_ACl and GluCl), a target that they share with other

ectoparasiticides like fipronil, dieldrin and avermectins [17, 18]. More specifically, isoxazolines mostly act on the GABA_A channel by blocking ion channel opening [17–20]. Isoxazolines, like sarolaner and afoxolaner, have been shown to kill adult ticks and prevent *B. burgdorferi* transmission in dogs [21, 22]. Fluralaner, another member of this new family, is noted for its ability to kill ticks rapidly and for its long efficacy period following a single oral administration, when used in dogs [23, 24]. Wengenmayer et al. [24] showed that, in dogs, fluralaner (Bravecto™ chewable formulation) killed 98% of infesting adult *Ixodes ricinus* ticks within 24 hours following a single oral administration up to 12 weeks post-treatment. A pharmacology study in dogs supported the clinical observations of a long duration effect by measuring a fluralaner half-life of 12–15 days and a quantifiable plasmatic concentration for up to 112 days [25]. These two characteristics, high efficacy and long duration of effect, are attractive features for treatment of wildlife where providing an effective dose to a significant proportion of the host population can be both difficult and costly. In addition, isoxazolines have been shown to be safe when applied at many times the recommended dose in both mammals (dogs and rats [26–28]) and birds (chickens [29, 30]). Some toxicological data about fluralaner and related compounds like afoxolaner and sarolaner exist for laboratory mice (*Mus musculus*) but they are limited to genotoxicity and mutagenicity [20, 29, 31].

Despite the potential of rodent-targeted interventions for reducing LD risk in the environment and the unique pharmacological properties of fluralaner and other isoxazolines, there are currently no data on the efficacy of this product in mice, and specifically in wild mice of the genus *Peromyscus*. *Peromyscus* mice are considered to be the primary wildlife reservoirs for *Borrelia burgdorferi* in much of North America [32, 33].

In the present study, we administered fluralaner to *Peromyscus* mice and then infested mice with larval *Ixodes scapularis* ticks in a controlled trial in a laboratory environment as a first step to evaluate the potential of fluralaner, and more broadly the new isoxazoline family of ectoparasiticide drugs, to kill ticks on wild rodents as a public health intervention.

Methods

Animals

Eighty-seven healthy *Peromyscus maniculatus* mice from Rocky Mountain Laboratory (Hamilton, MT, USA) were used in this experiment. *Peromyscus maniculatus* is a competent reservoir for *B. burgdorferi* and permissive host for *I. scapularis*, and closely phylogenetically related to *P. leucopus* the primary reservoir for LD in many parts of North America [32]. The group was composed of 40 male and 47 female adult mice (> 1 year-old) with an average weight (\pm standard deviation, SD) of 20.1 ± 2.7 g. Mice were individually housed in cages with 580 cm² floors, environmental enrichment, commercial food (Charles River rodent diet, Charles River Laboratory, Wilmington, MA, USA) and tap water during the entire experimentation period. All animals were housed in the same room at a temperature between 22–25 °C, a relative humidity between 50–70%, and a 12:12 h light/dark photocycle. Behaviour was visually assessed daily, and mouse weight was assessed during each manipulation. Mice were euthanized at the end of the experiment or when limit points were reached.

Experimental design

Mice were randomly allocated to three equal groups of 29 animals: one control group and two treatment groups. Each mouse received a 250 mg peanut butter bait: fluralaner (Bravecto™

chewable formulation, Merck Animal Health, Madison, NJ, USA) was mixed with peanut butter baits in the two treatment groups, while pure peanut butter was given to the control group. The first treatment group received a dose of 50 mg/kg, which is 2 times the minimal targeted treatment dose used for dogs, and the second treatment group received a dose of 12.5 mg/kg, which is half the minimal targeted treatment dose for dogs [23, 24]. The 50 mg/kg dose was chosen since we anticipated more rapid clearance of the molecule by *Peromyscus* mice compared to dogs. The 12.5 mg/kg dose was included to evaluate the potential clinical effect of a dose below the targeted range, which is likely to occur under field conditions. Each mouse received their treatment and access to regular food was maintained during the period when baits were deposited in the cages to mimic the context of a natural environmental intervention with food competition. Bait consumption was verified after 24 h to ensure the entire bait had been consumed.

Infestations

To evaluate treatment efficacy, each mouse was infested with 20 unfed *I. scapularis* larvae at three time points: 2, 28, and 45 days post-treatment. The larvae were hatched from eggs 2 to 3 months before the start of the study and displayed typical host-seeking behaviours at the time of experimental infestations. Groups of mice were infested with larvae of the same age. Infestation was performed by placing larvae on the ears and fur using fine-tipped forceps. To maximise larval attachment, mice were anesthetized (isoflurane 2%) for 1 h during infestation with heater carpets as thermal support and with an injection of subcutaneous fluid (0.5 ml of NaCl 0.9%). At 12, 24, and 48 h post-infestation, mice were visually inspected under anesthesia for a duration of 5 min to count attached larvae. To visually inspect mice, observers followed a

systematic inspection procedure: (i) inspection of the ears, head and face; (ii) inspection of the back; and (iii) inspection of the stomach, legs and tail. Observers were blinded to the treatment in order to prevent bias. At 48 h, a sample of remaining attached larvae was removed from each mouse and observed under a binocular microscope to classify them as dead or alive. Larvae showing movement of the legs, movement of the palps and mouthparts, or midgut pulsation were considered alive and larvae expressing none of these behaviours were considered dead. Larvae with no mouthpart during the observation were excluded because the sampling technique was assumed to be the cause of death. The proportion of attached larvae that died was obtained from the observations of larvae and was used to calculate the number of attached living larvae.

Statistical models

Three generalized linear models (GLMs) were used to analyze the data. The dependent variable for Model 1 was the number of attached larvae. The dependent variable for Model 2 was the number of attached living larvae. Both models 1 and 2 used a negative binomial distribution to account for overdispersion. Independent variables for Models 1 and 2 were the treatment dose, the time elapsed (h) between infestation and larva count, the time elapsed (days) between treatment administration and larva count and mouse sex. Mouse ID was included in both models as a random factor to account for repeated measures. For Model 3, the dependent variable was the proportion of attached larvae on each mouse that were dead at 48 h for each infestation, hereafter termed “mortality proportion”, modelled using a binomial distribution. The independent variables were the treatment dose, the time elapsed (days) between treatment administration and larvae count, mouse sex and mouse ID as random factor. Sex was

added as a covariate in all models because a link exists between this factor and the number of ticks infesting small mammals [33]. Model fit was evaluated using Pearson residual plots. Statistical analyses were performed using R version 3.5.1 with *glmmADMB*, *lme4* and *ggplot2* packages [34–38].

Efficacy assessment

Efficacy was defined as the proportion of larvae killed due to the treatment and was calculated based on the number of attached living larvae according to Abbott's formula [39]:

$$\text{Efficacy (\%)} = \frac{M_c - M_t}{M_c} \times 100$$

where M_c is the arithmetic mean of the number of attached living larvae in the control group and M_t is the arithmetic mean of the number of attached living larvae in treatment groups. For all experimental groups, detached larvae were assumed to be dead.

Concentration of fluralaner in blood

Mouse blood was sampled under anesthesia from the lateral femoral vein on 3 mice in each treatment group on each infestation day, i.e. at Day 2, 28 and 45 post-treatment. Following sampling, the blood was centrifuged at $3000 \times g$ for 15 min to extract the plasma. Two hundred μl of internal standard solution (100 ng/ml of reserpine in methanol) was added to 50 μl of plasma samples. The sample was quickly vortexed, left to stand for a period of 10 min and then centrifuged at $12,000 \times g$ for 10 min. The supernatant was transferred into an injection vial for HPLC-MS analysis. The HPLC system was a Vanquish Flex UHPLC system (Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA, USA). The chromatography was achieved using a gradient mobile phase along with a microbore column Thermo BioBasic Phenyl (Thermo Fisher Scientific) $50 \times 1 \text{ mm}$

with a particle size of 5 μm . The initial mobile phase condition consisted of acetonitrile and water (both fortified with 0.1% formic acid) at a ratio of 5:95. From 0 to 1 minute, the ratio was maintained at 5:95. From 1 to 5 min, a linear gradient was applied up to a ratio of 20:80 and maintained for 3 min. The mobile phase composition ratio was reverted at the initial conditions and the column was allowed to re-equilibrate for 7 min for a total run time of 15 min. The flow rate was fixed at 75 $\mu\text{l}/\text{min}$ and 2 μl of samples were injected. A Q Exactive Orbitrap Mass Spectrometer (Thermo Fisher Scientific) was interfaced with a UltiMate 3000 Rapid Separation UHPLC system (Thermo Fisher Scientific), using a pneumatic assisted heated electrospray ion source. MS detection was performed in positive ion mode, operating in high-resolution accurate-mass (HRAM) scan mode. Nitrogen was used for sheath and auxiliary gases and were set at 10 and 5 arbitrary units. The heated ESI probe was set to 4000 V and the ion transfer tube temperature was set to 300 $^{\circ}\text{C}$. The scan range was set to m/z 500–700. Data were acquired at a resolving power of 140,000 (FWHM) using an automatic gain control target of 3.0×10^6 and maximum ion injection time of 200 msec. Targeted drug quantification was performed by MS detection using specific precursor masses based on monoisotopic masses (i.e. $[\text{M} + \text{H}]^+$ ions). Quantification was performed by extracting specific precursor ions using a 5 ppm mass window. Instrument calibration was performed prior to all analysis and mass accuracy was notably below 1 ppm using PierceTM LTQ Velos ESI positive ion calibration solution (Thermo Fisher Scientific) and automated instrument protocol. Fluralaner quantification was performed using peak-area ratio of fluralaner, and the internal standard reserpine and concentrations were determined by interpolating unknowns from the calibration curve constructed with a standard prepared in mouse plasma. The observed precision and accuracy were < 15%. Plasmatic concentrations

were statistically analyzed for each time point with the non-parametric Mann-Whitney-Wilcoxon test.

Results

Animals and bait consumption

Eight mice died or were euthanized according to the protocol limit points before the completion of the experiment (Table 12). All mice completely consumed the 250 mg bait within the first 24 h after administration.

Attached larvae (Model 1)

The number of attached larvae decreased over the course of the 48 h post-infestation observation period in both treatment and control groups. During the first infestation (Day 2 post-treatment), the number of attached larvae in the two treatment groups significantly decreased from a mean (\pm standard error, SE) of 7.3 ± 0.4 to a mean of 4.0 ± 0.3 attached larvae between 12 and 48 h post-infestation (GLM, Wald-test, $P < 0.001$). In the control group, the mean number of attached larvae slightly decreased from 8.3 ± 0.5 (SE) to 7.6 ± 0.6 (SE) (GLM, Wald-test, $P = 0.58$). The reduction in the number of attached larvae was significantly higher in the two treatment groups than in the control group (GLM, Wald-test, $P = 0.001$) (Figure 3). Both treatment groups showed similar reductions of the number of attached larvae (GLM, Wald-test, $P = 0.92$). The treatment effect on the mean number of attached larvae was no longer significant for Day 28 (GLM, Wald-test, $P = 0.57$) and Day 45 (GLM, Wald-test, $P = 0.33$) infestations (Figure 4a).

Mortality proportion (Model 3)

A larger number of attached ticks, dead and alive, was collected in the control group ($n = 151$) in comparison to both treatment groups at Day 2: 92 in the 50 mg/kg group and 70 in the 12.5 mg/kg group. This difference was less pronounced at Day 28: 155 in the control group; 138 in the 50 mg/kg group; and 145 in the 12.5 mg/kg group (Table 12). In total the proportion of attached larvae that died was 93%, 87% and 8% for the 50 mg/kg, the 12.5 mg/kg and the control groups, respectively, at Day 2 after treatment administration. Treatment administration was significantly associated with a high larval mortality proportion (GLM, Wald-test, $P < 0.001$). Mortality proportion decreased significantly over time (GLM, Wald-test, $P < 0.001$) and became statistically non-significant at Day 45 post-treatment (Figure 4b). The most substantial reduction in mortality proportion occurred between Day 2 and Day 28 (GLM, Wald-test, $P < 0.001$) with no statistical difference between Day 28 and Day 45 (GLM, Wald-test, $P = 0.2$).

Attached living larvae (Model 2) and efficacy

On Day 2, both treatment groups showed a significantly greater reduction in the number of attached living larvae compared to the control group (GLM, Wald-test, $P = 0.001$). In the 50 mg/kg and the 12.5 mg/kg group the mean number of attached living larvae increased with time since treatment: respectively 0.2 ± 0.1 (SE) and 0.4 ± 0.2 (SE) when ticks attached on Day 2, but 8.0 ± 0.6 (SE) and 7.9 ± 0.6 (SE) when ticks attached on Day 28 (Figure 4c). On Day 2, fluralaner treatment efficacy was 97% and 94% for the 50 mg/kg and the 12.5 mg/kg groups, respectively. Efficacy decreased at Day 28 to 3% for the 50 mg/kg dose and 4% for the 12.5 mg/kg dose (Table 13).

Concentration of fluralaner in blood

At Day 2, the plasmatic concentration (C_p) arithmetic mean (\pm standard deviation, SD) was $13,815 \pm 11,585$ ng/ml in the 50 mg/kg group and 4594 ± 6995 ng/ml in the 12.5 mg/kg. Nevertheless, given the great variability in the C_p of tested individuals, C_p were not statistically different between the two groups (Mann-Whitney U test, $U_{(6)} = 7$, $P = 0.4$). At Day 28, the differences in C_p between treatments decreased with 579 ± 885 (SD) ng/ml in the 50 mg/kg group and 208 ± 277 (SD) ng/ml in the 12.5 mg/kg group (Mann-Whitney U test, $U_{(6)} = 7$, $P = 0.4$). Plasmatic concentration became roughly the same at Day 45 (Mann-Whitney U test, $U_{(6)} = 0$, $P = 0.1$) with 46.7 ± 0.5 (SD) ng/ml and 52 ± 1 (SD) ng/ml, respectively (Figure 4d).

Discussion

To the best of our knowledge, this study provides the first evidence that fluralaner is effective at killing larval *I. scapularis* ticks feeding upon *Peromyscus* mice. Efficacy two days post-treatment was greater than 90% for both tested doses, suggesting that fluralaner delivered orally using voluntarily-consumed baits has the potential to kill a significant proportion of immature ticks infesting small mammals, thus disrupting the *B. burgdorferi* transmission cycle in nature. While fluralaner did not provide the same duration of high efficacy as seen in dogs, the achieved efficacy of 94% at Day 2 with a 12.5 mg/kg treatment dose indicates that fluralaner provides effective short-term protection in *Peromyscus* mice at a dose 4 times lower than 50 mg/kg and 2 times than 25 mg/kg. Overall, our results suggest that regular administration of fluralaner baits to small mammals during the peak season for immature ticks has the potential to provide a promising new approach for localized reduction of LD risk in North America.

We found that, 2 days post-treatment, fluralaner reduced the mean number of attached larvae on *Peromyscus* mice (Figures 3, 4a). This suggests that fluralaner treatment at the two doses tested affected larval viability enough to cause them to fall off. This may be associated with an increased susceptibility to host grooming behavior, which is a major factor in explaining mouse ectoparasite infestation rates [40–43], although hard ticks are somewhat resistant to grooming due to their tough cuticles and feeding behaviour which causes them to be anchored to the skin [44]. However, treatment did not bring the number of attached larvae to zero (Figure 1), even though many attached larvae were in fact dead. The fact that treatment may be effective without causing ticks to detach is an important consideration for the evaluation of treatment efficacy in the absence of a direct evaluation of the viability of larvae. A similar observation was made by Fisara & Webster [45] in their clinical controlled trial of Bravecto™ efficacy in dogs against *Ixodes holocyclus* ticks, in which the authors noted that the presence of attached ticks on dogs could be perceived as a treatment failure, but they observed that the remaining ticks were killed by the treatment.

We were able to confirm treatment efficacy by documenting significant tick mortality in attached larvae, which brought the infestation rate based on attached living larvae close to zero in both treatment groups. The significant difference in the proportion of dead larvae was the main observation supporting treatment efficacy at Day 2 post-treatment and was the only significant difference between treatment and control groups at Day 28 (Figures 4b, c). Unlike a study of fluralaner efficacy against adult *I. ricinus* ticks on dogs, the treatment did not result in an efficacy of 100% within 2 days of treatment administration [24]. This difference could be explained by variability in attachment and the feeding speed of the larvae depending on their

ability to bite at the time of infestation, resulting in a delay in the treatment effect [46]. Previously published studies used adult ticks, and the difference in the volume of the blood meals of larvae and adults, could also explain the different results observed in this study [47].

We found that clinical effect of fluralaner bait in mice declined rapidly over time, showing only a marginally greater tick mortality proportion compared to controls, with a limited impact on the attached living larva infestation rate 28 days post-treatment (Figure 4). This differs from previous findings reported in dogs where fluralaner efficacy against adult ticks remained high for more than 2 months post-treatment [23, 24, 45, 48]. Pharmacokinetics in dogs showed that fluralaner clearance is mainly *via* the hepatobiliary pathway [25, 27]. Systemic clearance of the molecule should be related to hepatic clearance, which is linked to hepatic blood flow [49]. Hepatic blood flow in mice is three times higher (129.6 l/kg/day) than in dogs (44.5 l/kg/day). So this difference, along with other physiological and metabolic differences between dogs and mice may explain the more rapid decline of treatment efficacy observed in the present study [25, 50]. At Day 2 after treatment, C_p values in mice for the dose of 50 mg/kg and the dose of 12.5 mg/kg were higher than those seen in dogs at the same doses and the same time point. In contrast, at day 28, mice had a mean C_p lower than what Kilp et al. [25] observed in dogs. While faster drug clearance appears to reduce the duration of effect in mice, it may also reduce fluralaner toxicity in mice and increase its therapeutic index in this species.

The C_p concentration was highly variable in both treatment groups, particularly shortly following treatment, likely due in part to the oral self-administration of the treatment bait. By 45 days post-treatment, fluralaner concentration decreased below 100 ng/ml (Figure 4d) also supporting the hypothesis of faster drug clearance in mice than in dogs. In dogs, Kilp et al. [25]

measured C_p values below the 100 ng/ml threshold just before 60 days or 2 months post-treatment. Similarly, Becskei et al. [48] observed a reduction of the Bravecto™ formulation efficacy in dogs after 60 days. In contrast, we observed the greatest efficacy reduction between day 2 and day 28 post-treatment, with only a marginal effect at 28 days when mean C_p values were 578 ng/ml for the 50 mg/kg group and 207 ng/ml for the 12.5 mg/kg group. The absence of difference in clinical effect between 12.5 mg/kg and 50 mg/kg treatment doses is similar to the study of Kilp et al. [25] who found no significant difference in C_p area under the curve (AUC) between 12.5 mg/kg and 50 mg/kg doses in dogs. The present study shows no statistical difference in C_p for the same dose range at Day 2, 28 and 45 after a single oral administration even with large C_p differences between the two groups at Day 2 (Figure 2d). While this observation correlates with clinical effect, it remains preliminary, given the high variability in the C_p data and limited statistical power. It is also possible that an efficacy differential between the two doses develops in the shorter term, i.e., somewhere between Day 2 and Day 28 post-treatment, but a greater observation frequency would be required to evaluate this.

The infestation method used in this study resulted in significant loss of larvae between infestation and the observation time points in both treated and control group (Figure 3). This phenomenon occurred at all infestations and resulted in a low infestation rate at 48 hours for all groups even in the absence of a significant treatment effect (Table 12, Figure 4a). Grooming behaviour could partly explain this observation as *Peromyscus* mice are reported to be effective at removing and damaging infesting larvae [43]. Larval loss could also be partially explained by the variable attachment ability of larvae related to variation in larval activity during the infestation period and in varying capacity of individual larvae to attach to and feed on mice.

Nilsson & Lundqvist [46] reported that ticks that do not find suitable feeding sites can actively leave the host or passively fall off due to host movements and larval attachment rates of less than 50% on mice are not uncommon in the literature [51]. A low rate of larval attachment could be explained by the fact that no device or procedure was used to restrain mouse movements or grooming behavior, potentially decreasing the attachment success of larvae post-anesthesia [52, 53]. Visual inspection of mice could also have underestimated the number of attached larvae as ticks may have attached in locations where it was hard to see them (e.g. in the dense fur on their backs or between their toes). Nevertheless, the low rate of attachment does not affect the conclusion of this study, given that the application of the same infestation technique in each group, and of a standardized observation method, ensured that control and treatment groups remained comparable.

Conclusion

This study showed that fluralaner is effective at killing *I. scapularis* ticks that infest *Peromyscus* mice, a natural reservoir host of LD. This is a first step towards potential use of fluralaner in baits to treat wild rodents as an intervention to reduce LD risk in North America. However, more research is needed to better understand duration of efficacy, pharmacokinetics and toxicology of fluralaner in wild rodents in order to evaluate treatment efficacy, safety and predictability. The efficacy of smaller and shorter treatments when determining a treatment dose and refilling frequency for baits targeting wild rodents like *Peromyscus* mice in an intervention setting should also be considered. Further pharmacological research on mice in the laboratory setting and field trials in wildlife could help address some of these questions.

Abbreviations

AUC: area under the curve; C_p : plasma concentration; GLM: generalized linear model; LD: Lyme disease; SD: standard deviation; SE: standard error.

Acknowledgements

The authors would like to thank all the interns who helped during the study and all the employees from the Cégep de Saint-Hyacinthe for taking care of and housing the mice during the experiment.

Ethics approval and consent to participate

All animal experiments were performed in agreement with the Canadian Council on Animal Care (CCAC) regulation and with the ethical approval of the institutional animal ethics committee of Université de Montréal (16-Rech-1845) and of CÉGEP de Saint-Hyacinthe (ENS-LYME-2017-HY).

Consent for publication

Not applicable.

Availability of data and materials

The datasets generated during and/or analysed during the current study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Funding

This study was funded by the Université de Montréal, the Institute National de Santé Publique du Québec (INSPQ), the Public Health Agency of Canada (PHAC) and a Natural Sciences and

Engineering Research Council of Canada (NSERC) Discovery grant to P. Leighton. The mass spectrometry analyses were performed using an infrastructure funded by the Canadian Foundation for Innovation (CFI) and the Fonds de Recherche du Québec (FRQ), Gouvernement du Québec (F. Beaudry CFI Johns R. Evans Leaders grant no 36706).

Authors' contributions

JP, JPR, CA, NHO, LRL, CB and PAL participated in the study design and protocol. JP, JPR and GDM conducted the experiment. FB designed and conducted the mass spectrometry analysis. JP conducted statistical analysis and wrote the manuscript. All authors revised the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

References

1. Steere AC, Grodzicki RL, Kornblatt AN, Craft JE, Barbour AG, Burgdorfer W, et al. The spirochetal etiology of Lyme disease. *N Engl J Med.* 1983;308:733–40.
2. Little SE, Heise SR, Blagburn BL, Callister SM, Mead PS. Lyme borreliosis in dogs and humans in the USA. *Trends Parasitol.* 2010;26:213–8.
3. Center for Disease Control and Prevention. Lyme disease data tables: historical data. Atlanta, GA, USA: CDC; 2019. p. 4. <https://www.cdc.gov/lyme/stats/tables.html>. Accessed 1 Dec 2019.
4. Ogden NH, Lindsay LR, Morshed M, Sockett PN, Artsob H. The emergence of Lyme disease in Canada. *CMAJ.* 2009;180:1221–4.
5. Bouchard C, Leonard E, Koffi JK, Pelcat Y, Peregrine A, Chilton N, et al. The increasing risk of Lyme disease in Canada. *Can Vet J.* 2015;56:693–9.

6. Public Health Agency of Canada. Surveillance of Lyme disease. Ottawa, ON, Canada: Canada Health; 2018. <https://www.canada.ca/en/public-health/services/diseases/lyme-disease/surveillance-lyme-disease.html>. Accessed 1 Dec 2019.
7. Eisen L, Dolan MC. Evidence for personal protective measures to reduce human contact with blacklegged ticks and for environmentally based control methods to suppress host-seeking blacklegged ticks and reduce infection with Lyme disease spirochetes in ticks vectors and rodent reservoirs. *J Med Entomol*. 2016;53:1063–92.
8. Hayes EB, Piesman J. How can we prevent Lyme disease? *N Engl J Med*. 2003;348:2424–30.
9. Piesman J, Eisen L. Prevention of tick-borne diseases. *Annu Rev Entomol*. 2008;53:323–43.
10. Richer LM, Brisson D, Melo R, Ostfeld RS, Zeidner N, Gomes-Solecki M. Reservoir targeted vaccine against *Borrelia burgdorferi*: a new strategy to prevent Lyme disease transmission. *J Infect Dis*. 2014;209:1972–80.
11. Tsao JI, Wootton JT, Bunikis J, Luna MG, Fish D, Barbour AG. An ecological approach to preventing human infection: vaccinating wild mouse reservoirs intervenes in the Lyme disease cycle. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101:18159–64.
12. Daniels TJ, Fish D, Falco RC. Evaluation of host-targeted acaricide for reducing risk of Lyme disease in southern New York state. *J Med Entomol*. 1991;28:537–43.
13. Deblinger RD, Rimmer DW. Efficacy of a permethrin-based acaricide to reduce the abundance of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol*. 1991;28:708–11.
14. Dolan MC, Schulze TL, Jordan RA, Schulze CJ, Ullmann AJ, Hojgaard A, et al. Evaluation of

- doxycycline-laden oral bait and topical fipronil delivered in a single bait box to control *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) and reduce *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum* infection in small mammal reservoirs and host-seeking ticks. *J Med Entomol.* 2017;54:403–10.
15. Mather TN, Ribeiro JM, Spielman A. Lyme disease and babesiosis: acaricide focused on potentially infected ticks. *Am J Trop Med Hyg.* 1987;36:609–14.
 16. Stafford KC 3rd. Third-year evaluation of host-targeted permethrin for the control of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) in southeastern Connecticut. *J Med Entomol.* 1992;29:717–20.
 17. Gassel M, Wolf C, Noack S, Williams H, Ilg T. The novel isoxazoline ectoparasiticide fluralaner: selective inhibition of arthropod gamma-aminobutyric acid- and L-glutamate-gated chloride channels and insecticidal/acaricidal activity. *Insect Biochem Mol Biol.* 2014;45:111–24.
 18. Shoop WL, Hartline EJ, Gould BR, Waddell ME, McDowell RG, Kinney JB, et al. Discovery and mode of action of afoxolaner, a new isoxazoline parasiticide for dogs. *Vet Parasitol.* 2014;201:179–89.
 19. Ozoe Y, Asahi M, Ozoe F, Nakahira K, Mita T. The antiparasitic isoxazoline A1443 is a potent blocker of insect ligand-gated chloride channels. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;391:744–9.
 20. McTier TL, Chubb N, Curtis MP, Hedges L, Inskeep GA, Knauer CS, et al. Discovery of sarolaner: a novel, orally administered, broad-spectrum, isoxazoline ectoparasiticide for dogs. *Vet Parasitol.* 2016;222:3–11.
 21. Honsberger NA, Six RH, Heinz TJ, Weber A, Mahabir SP, Berg TC. Efficacy of sarolaner in the

- prevention of *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum* transmission from infected *Ixodes scapularis* to dogs. *Vet Parasitol.* 2016;222:67–72.
22. Baker CF, McCall JW, McCall SD, Drag MD, Mitchell EB, Chester ST, et al. Ability of an oral formulation of afoxolaner to protect dogs from *Borrelia burgdorferi* infection transmitted by wild *Ixodes scapularis* ticks. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2016;49:65–9.
 23. Rohdich N, Roepke RKA, Zschiesche E. A randomized, blinded, controlled and multi-centered field study comparing the efficacy and safety of Bravecto (fluralaner) against Frontline (fipronil) in flea- and tick-infested dogs. *Parasit Vectors.* 2014;7:83.
 24. Wengenmayer C, Williams H, Zschiesche E, Moritz A, Langenstein J, Roepke RKA, et al. The speed of kill of fluralaner (Bravecto™) against *Ixodes ricinus* ticks on dogs. *Parasit Vectors.* 2014;7:525.
 25. Kilp S, Ramirez D, Allan MJ, Roepke RKA, Nuernberger MC. Pharmacokinetics of fluralaner in dogs following a single oral or intravenous administration. *Parasit Vectors.* 2014;7:85.
 26. Walther FM, Allan MJ, Roepke RKA, Nuernberger MC. Safety of fluralaner chewable tablets (Bravecto), a novel systemic antiparasitic drug, in dogs after oral administration. *Parasit Vectors.* 2014;7:87.
 27. Committee for Medicinal Products for Veterinary Use. CVMP assessment report for Bravecto (EMA/V/C/002526/0000). London, UK: European Medicines Agency; 2013. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/bravecto-epar-public-assessment-report_en.pdf. Accessed 15 Dec 2019.

28. Committee for Medicinal Products for Veterinary Use. CVMP assessment report for Bravecto for spot-on solution for dogs and cats (EMA/V/C/002526/X/0005). London, UK: European Medicines Agency; 2016. https://www.ema.europa.eu/en/documents/variation-report/bravecto-v-c-2526-x-0005-epar-assessment-report-variation_en.pdf. Accessed 15 Dec 2019.
29. Huyghe B, Le Traon G, Flochlay-Sigognault A. Safety of fluralaner oral solution, a novel systemic poultry red mite treatment, for chicken breeders' reproductive performances. *Parasit Vectors*. 2017;10:540.
30. Committee for Medicinal Products for Veterinary Use. CVMP assessment report for Bravecto Plus (EMA/V/C/004440/0000). London, UK: European Medicines Agency; 2018. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/bravecto-plus-epar-public-assessment-report_en.pdf. Accessed 22 Dec 2019.
31. Committee for Medicinal Products for Veterinary Use. CVMP assessment report for NexGard (EMA/V/C/002729/0000). London, UK: European Medicines Agency; 2013. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/nexgard-epar-public-assessment-report_en.pdf. Accessed 22 Dec 2019.
32. Lane RS, Piesman J, Burgdorfer W. Lyme borreliosis: relation of its causative agent to its vectors and hosts in North America and Europe. *Annu Rev Entomol*. 1991;36:587–609.
33. Bouchard C, Beauchamp G, Nguon S, Trudel L, Milord F, Lindsay LR, et al. Associations between *Ixodes scapularis* ticks and small mammal hosts in a newly endemic zone in southeastern Canada: implications for *Borrelia burgdorferi* transmission. *Ticks Tick Borne Dis*. 2011;2:183–90.

34. R Core Team. R: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical; 2017. <https://www.r-project.org/>. Accessed 22 Dec 2019.
35. Fournier DA, Skaug HJ, Ancheta J, Ianelli, James Magnusson, Arni Maunder MN, Sibert J. AD Model Builder: using automatic differentiation for statistical inference of highly parameterized complex nonlinear models. *Optim Methods Softw.* 2012;27:233–49.
36. Skaug H, Fournier D, Nielsen A, Magnusson A, Bolker B. glmmADMB: Generalized Linear Mixed Models using 'AD Model Builder'. 2013. <http://glmmadmb.r-forge.r-project.org/>. Accessed 15 Dec 2019.
37. Wickham H. *ggplot2: elegant graphics for data analysis*. New York: Springer-Verlag; 2009.
38. Bates D, Maechler M, Bolker B, Walker S. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J Stat Softw.* 2015;67:1–48.
39. Marchiondo AA, Holdsworth PA, Green P, Blagburn BL, Jacobs DE. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) guidelines for evaluating the efficacy of parasiticides for the treatment, prevention and control of flea and tick infestation on dogs and cats. *Vet Parasitol.* 2007;145:332–44.
40. Murray M. The ecology of the louse *Polyplax serrataq* (Burn.) on the mouse *Mus musculus* L. *Aust J Zool.* 1961;9:1–13.
41. Shaw M, Ostfeld RS, Keesing F. Infestation of *Peromyscus leucopus* and *Tamias striatus* by *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) as a result of tick host preference, host grooming efficiency, and habitat utilization. Undergraduate report. Bard College, NY, USA; 2001.

http://www.caryinstitute.org/sites/default/files/public/reprints/Shaw_2001_REU.pdf. Accessed 22 Dec 2019.

42. Slowik TJ, Lane RS. Feeding preferences of the immature stages of three western north american ixodid ticks (Acari) for avian, reptilian, or rodent hosts. *J Med Entomol*. 2009;46:115–22.
43. Levin ML, Fish D. Density-dependent factors regulating feeding success of *Ixodes scapularis* larvae (Acari: Ixodidae). *J Parasitol*. 1998;84:36–43.
44. Mans BJ, Neitz AWH. Adaptation of ticks to a blood-feeding environment: evolution from a functional perspective. *Insect Biochem Mol Biol*. 2004;34:1–17.
45. Fisara P, Webster M. A randomized controlled trial of the efficacy of orally administered fluralaner (Bravecto) against induced *Ixodes holocyclus* (Australian paralysis tick) infestations on dogs. *Parasit Vectors*. 2015;8:257.
46. Nilsson A, Lundqvist L. Host selection and movements of *Ixodes ricinus* (Acari) larvae on small mammals. *Oikos*. 1978;31:313–22.
47. Koch HG, Sauer JR. Quantity of blood ingested by four species of hard ticks (Acari: Ixodidae) fed on domestic dogs. *Ann Entomol Soc Am*. 1984;77:142–6.
48. Becskei C, Geurden T, Liebenberg J, Cuppens O, Mahabir SP, Six RH. Comparative speed of kill of oral treatments with Simparica (sarolaner) and Bravecto® (fluralaner) against induced infestations of *Rhipicephalus sanguineus* on dogs. *Parasit Vectors*. 2016;9:103.
49. Toutain PL, Bousquet-Melou A. Plasma clearance. *J Vet Pharmacol Ther*. 2004;27:415–25.

50. Davies B, Morris T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. Vol. 10, Pharmaceutical research. USA (New York): Kluwer Academic Publishers-Plenum Publisher; 1993. p. 1093–5.
51. Nuss AB, Mathew MG, Gulia-Nuss M. Rearing *Ixodes scapularis*, the black-legged tick: feeding immature stages on mice. J Vis Exp. 2017:55286.
52. James AM, Oliver JHJ. Feeding and host preference of immature *Ixodes dammini*, *I. scapularis*, and *I. pacificus* (Acari: Ixodidae). J Med Entomol. 1990;27:324–30.
53. Banks CW, Oliver JHJ, Hopla CE, Dotson EM. Laboratory life cycle of *Ixodes woodi* (Acari: Ixodidae). J Med Entomol. 1998;35:177–9.

Figures

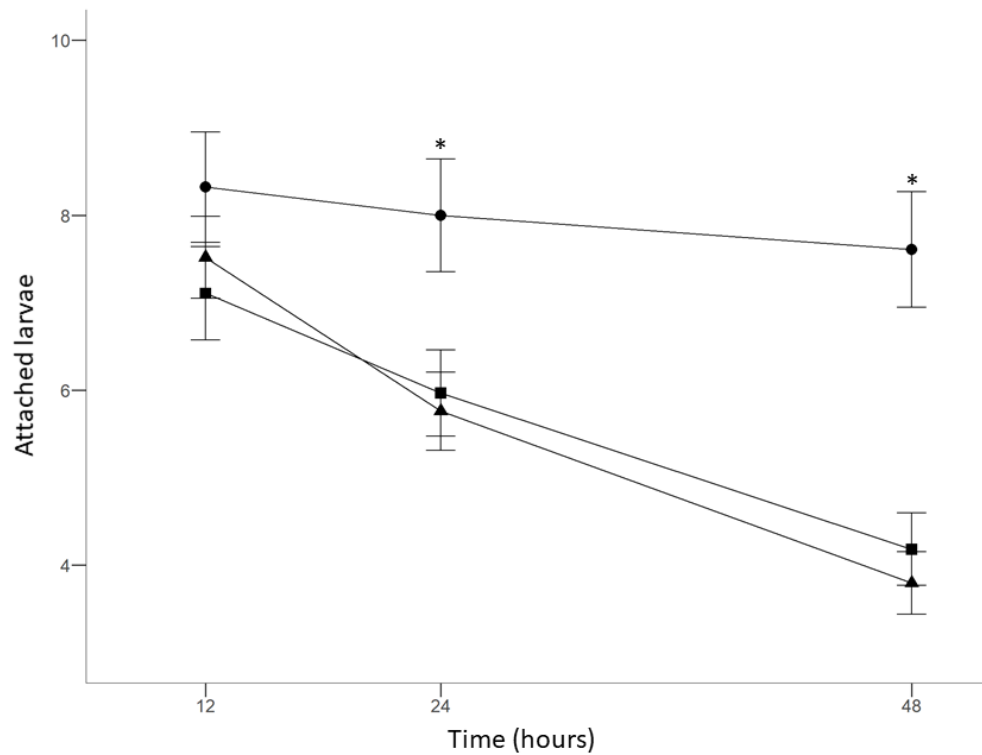


Figure 3. Mean number of attached larvae 12, 24 and 48 h following infestation carried out 2 days after administration of fluralaner treatment. Mice were infested with 20 larvae at time 0 and ticks were counted at 12, 24 and 48 h post-infestation. Error bars are ± 1 SE. Key: Circle, 0 mg/kg; square, 50 mg/kg; triangle, 12.5 mg/kg; *, a statistically significant difference compared with the 0 mg/kg group (GLM, Wald-test, $P < 0.01$)

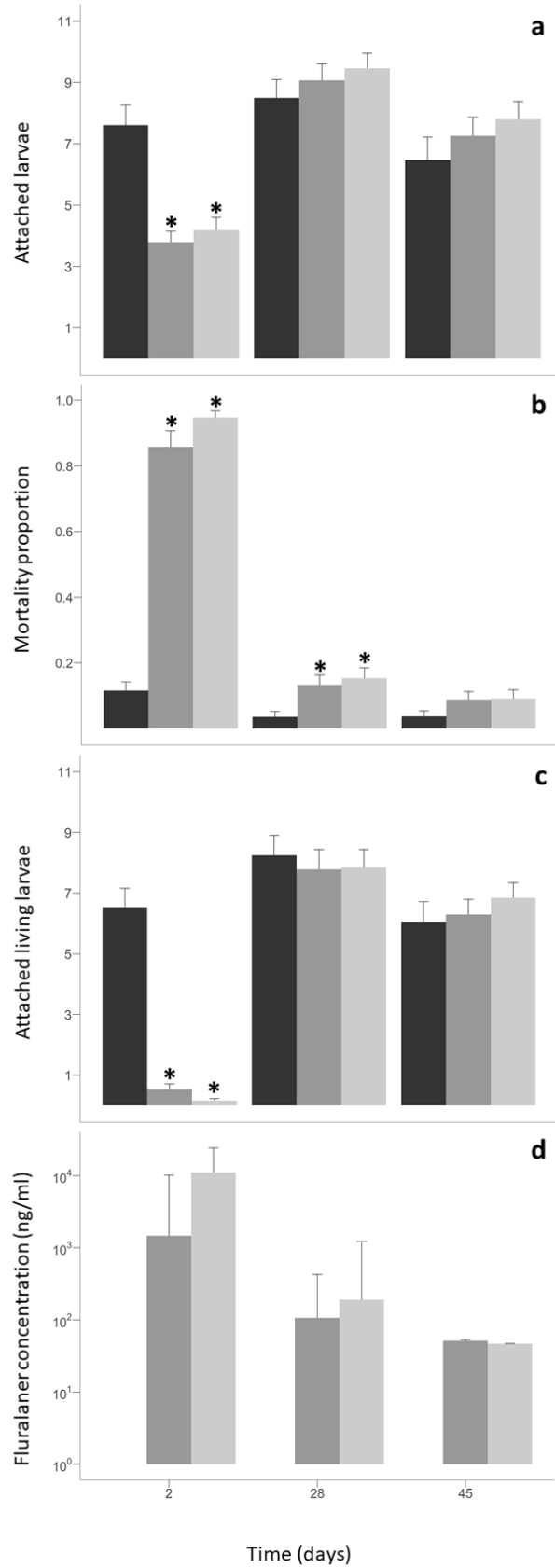


Figure 4. Effect of fluralaner treatment 48 h following infestations carried out at Day 2, 28 and 45 post-treatment. a Mean number of attached larvae at 48 h obtained by mouse visual inspections. b Mortality proportion of larvae at 48 h post-infestation. A sample of the remaining attached larvae was collected at 48 h and observed under microscope to evaluate if they were dead or alive. c Mean number of attached living larvae at 48 h calculated from the number of attached larvae and the larvae mortality proportion. d Fluralaner Cp arithmetic mean obtained from blood samples of three mice from each treatment group. Error bars represent ± 1 SE in a, b and c, and ± 1 SD in d. Key: black, 0 mg/kg; dark grey, 12.5 mg/kg; light grey, 50 mg/kg; *, a statistically significant difference compared with the control group (0 mg/kg) (GLM, Wald-test, $P < 0.01$)

Tables

Table 12. Number of attached larvae on mice 48 hours post-infestation for each experimental group at Day 2, Day 28 and Day 45 after treatment administration

Time since treatment (days)	Count of attached larvae Descriptive statistics	0 mg/kg		50 mg/kg		12.5 mg/kg	
		M	F	M	F	M	F
		2	Mean ^A	7.0	8.1	3.7	4.6
	Range (min-max)	3 - 13	2 - 14	1 - 7	3 - 11	1 - 7	2 - 8
	Total (<i>n</i>) ^B	213 (28)		117 (28)		110 (29)	
	Sample ^C	151		92		70	
	Death	19		86		61	
28	Mean ^A	7.6	9.2	10.3	8.9	10.5	8.5
	Range (min-max)	3 - 15	5 - 15	6 - 15	5 - 13	6 - 18	4 - 12
	Total (<i>n</i>) ^B	238 (28)		246 (26)		254 (28)	
	Sample ^C	155		138		145	
	Death	4		21		18	
45	Mean ^A	6.3	6.7	7.3	8.1	5.6	7.9
	Range (min-max)	3 - 9	3 - 15	5 - 9	4 - 15	3 - 9	1 - 14
	Total (<i>n</i>) ^B	110 (15) ^D		195 (25)		196 (27)	
	Sample ^C	86		175		165	
	Death	4		17		18	

^AArithmetic mean.

^BNumber of mice contributing to the total tick count.

^CNumber of larvae sampled at 48 h post-infestation.

^D13 mice were not tested because of lack of resources.

Abbreviations: M, male mice; F, female mice.

Table 13. Fluralaner dose efficacy at Day 2, Day 28 and Day 45 after treatment administration

Infestation	Dose	Attached living larvae^A	Efficacy (%)
Day 2	0 mg/kg	6.65	
	50 mg/kg	0.19	97.1
	12.5 mg/kg	0.43	93.5
Day 28	0 mg/kg	8.28	
	50 mg/kg	8.02	3.1
	12.5 mg/kg	7.94	4.1
Day 45	0 mg/kg	6.06	
	50 mg/kg	6.84	0
	12.5 mg/kg	6.30	0

^AArithmetic mean.

Note: Efficacy represents the proportion of ticks killed by the treatment.

Chapitre 2 - Fluralaner baits reduce the infestation of *Peromyscus* spp. mice by *Ixodes scapularis* larvae and nymphs in a natural environment²⁷

Jérôme Pelletier^{1,2,3*}, Jean-Philippe Rocheleau^{2,4}, Cécile Aenishaenslin^{1,2,3}, Gabrielle Dimitri Masson^{1,2}, L. Robbin Lindsay⁵, Nicholas H. Ogden^{2,6}, Catherine Bouchard^{2,6} and Patrick A. Leighton^{1,2,3}

¹Département de pathologie et microbiologie, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada.

²Groupe de recherche en épidémiologie des zoonoses et santé publique, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada.

³Centre de Recherche en Santé Publique, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada.

⁴Département de santé animale, CÉGEP de Saint-Hyacinthe, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada.

⁵One Health Division, National Microbiology Laboratory, Public Health Agency of Canada, Winnipeg, Manitoba, Canada.

⁶Public Health Risk Sciences Division, National Microbiology Laboratory, Public Health Agency of Canada, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada.

²⁷ Article publié dans *Journal of medical entomology*

Abstract

The development of interventions that reduce Lyme disease incidence remains a challenge. Reservoir-targeted approaches aiming to reduce tick densities or tick infection prevalence with *Borrelia burgdorferi* have emerged as promising ways to reduce the density of infected ticks (DIT). Acaricides of the isoxazoline family offer high potential for reducing infestation of ticks on small mammals as they have high efficacy at killing feeding ticks for a long period. Fluralaner baits were recently demonstrated as effective, in the laboratory, at killing *Ixodes scapularis* larvae infesting *Peromyscus* mice, the main reservoir for *B. burgdorferi* in northeastern North America. Here, effectiveness of this approach for reducing the infestation of small mammals by immature stages of *I. scapularis* was tested in a natural environment. Two densities of fluralaner baits (2.1 baits/1000m² and 4.4 baits/1000m²) were used during three years in forest plots. The number of *I. scapularis* larvae and nymphs per mouse from treatment and control plots was compared. Fluralaner baiting reduced the number of larvae per mouse by 68% (CI95: 51 - 79%) at 2.1 baits/1000m² and by 86% (CI95: 77 - 92%) at 4.4 baits/1000m². The number of nymphs per mouse was reduced by 72% (CI95: 22 - 90%) at 4.4 baits/1000m² but was not significantly reduced at 2.1 baits/1000m². Reduction of *Peromyscus* mouse infestation by immature stages of *I. scapularis* supports the hypothesis that an approach targeting reservoirs of *B. burgdorferi* with isoxazolines has the potential to reduce tick-borne disease risk by decreasing the density of infected ticks in the environment.

Keywords: Lyme disease, *Borrelia burgdorferi*, *Ixodes scapularis*, *Peromyscus*, fluralaner

Introduction

In central and eastern North America, Lyme disease (LD) risk is driven by the presence of blacklegged ticks, *Ixodes scapularis* Say, infected with the bacterium *Borrelia burgdorferi sensu stricto* (here after *B. burgdorferi*) in the environment (Mather et al. 1989, Kitron and Kazmierczak 1997, Pepin et al. 2012).

LD represents an important burden on public health. It is associated with a loss of 84.5 quality-adjusted life years per 100 000 people in Canada (Mac et al. 2021). The economic burden of this disease is also substantial due to high direct and indirect medical costs (Zhang et al. 2006, Mac et al. 2019). In addition, recent studies in the northeast USA (Berry et al. 2018) and southern Canada (Aenishaenslin et al. 2021) show that individuals spent less time in outdoor activities in response to perceived LD risk, which can impact on their health and quality of life. This burden is expected to increase in temperate areas of the northern hemisphere where the geographic distribution of LD is still expanding, such as Canada or northern Europe (Ogden et al. 2009, Leighton et al. 2012, Bouchard et al. 2015, Vandekerckhove et al. 2019). Duration and frequency of outdoor activities in public or in peridomestic woodlands with a high DIT are important risk factors for human exposure to ticks infected with *B. burgdorferi* (Smith et al. 1988, Lane et al. 1992, Ley et al. 1995, Mead et al. 2018, Aenishaenslin et al. 2022). The risk of human-tick encounters resulting in LD is greatest when people engage in outdoor activities within a peridomestic event (i.e., within their own yard or residential neighborhood (Fischhoff et al. 2019)).

The ongoing emergence of LD risk makes the development of effective interventions to prevent human exposure to infected ticks a public health priority. However, to date, few interventions

showed effectiveness at reducing LD incidence despite the development of many different approaches over the past decades (Eisen 2021). Preventive interventions aiming to reduce human exposure to infected ticks fall into four strategic objectives: 1- reducing tick density in the environment, 2- lowering prevalence of *B. burgdorferi* infection in the reservoir host and thus in host-seeking *B. burgdorferi*-infected ticks, 3- modifying human behavior to reduce either exposure to infected ticks or the probability of pathogen transmission, and 4- preventing infection through either vaccination or post-exposure prophylactic antibiotic treatment (Eisen et al. 2012). Strategies 1 and 2 aim to reduce the DIT which in turn would reduce the risk of LD. Targeting reservoir hosts of *B. burgdorferi*, such as small mammals, has the potential to meet strategic objectives 1 and 2 in one approach, because these hosts feed a high proportion of *I. scapularis* larvae and nymphs (Eisen and Eisen 2018).

In eastern and central North America, the most important reservoir hosts to target are mice within the genus *Peromyscus*; namely: the white-footed mouse, *P. leucopus* Rafinesque, and the deer mouse, *P. maniculatus* Wagner (Levine et al. 1985, Mather et al. 1989, Rand et al. 1993, Bouchard et al. 2011). Ticks can maintain *B. burgdorferi* trans-stadially but this pathogen is not transmitted vertically from adult female *I. scapularis* to their eggs or subsequent life stages (Patrican 1997, Scoles et al. 2001). Thus, reservoir hosts play a key role in *B. burgdorferi* endemic cycles by transmitting and amplifying the infection they acquire from infected *I. scapularis* nymphs to current (co-feeding) and subsequent cohorts of larvae (Piesman and Spielman 1979, Piesman and Happ 2001, Piesman and Gern 2004). Although the duration of infectivity can vary among strains of *B. burgdorferi*, at least some strains can cause life-long infections in *P. leucopus* populations (Donahue et al. 1987, Lindsay et al. 1997, Derdákóvá et al.

2004, Hanincová et al. 2008). For these reasons, applying an acaricide to resident mouse populations will likely reduce *I. scapularis* larvae and nymphs infesting those hosts and reduce the efficiency of the *B. burgdorferi* endemic cycle, which ultimately would reduce the DIT.

Both permethrin (topical administration) and fipronil (both topical and oral administration) are acaricidal compounds proven effective to reduce infestation of small mammals in laboratory (e.g. Poché et al. 2020, Poché et al. 2021) and/or in field experimental settings (e.g. Stafford 1992, Lane et al. 1998, Dolan et al. 2017). Several field studies using these acaricides have shown promising results at reducing the DIT (Mather et al. 1988, Deblinger and Rimmer 1991, Mejlom et al. 1995, Dolan et al. 2004, Schulze et al. 2017); however, other studies reported that such treatments had no impact (Daniels et al. 1991, Stafford 1992, Hinckley et al. 2021).

In 2014, a novel family of systemic acaricides named isoxazolines reached the veterinary drug market (Gassel et al. 2014, Shoop et al. 2014). Drugs of this family (e.g., afoxolaner, fluralaner, sarolaner and lotilaner) rapidly kill ticks feeding on treated hosts and they continue to do so for weeks, following a single treatment, when used in dogs (Wengenmayer et al. 2014, McTier et al. 2016, Six et al. 2016, Murphy et al. 2017) or cats (Geurden et al. 2017, Cavalleri et al. 2018) against adult *Ixodes* ticks. Afoxolaner and sarolaner kill adult *Ixodes* ticks so rapidly that *B. burgdorferi* transmission does not occur and as a result, treated dogs do not become infected nor do they develop signs of LD (Baker et al. 2016, Honsberger et al. 2016). Isoxazolines have also proven safe when used with a higher frequency of administration than recommended and/or at many times the minimal targeted dose in mammals such as rats (CVMP 2014) and dogs (Walther et al. 2014). Recently fluralaner baits were demonstrated effective in a laboratory setting at reducing the number of *I. scapularis* larvae infesting *Peromyscus* mice (Pelletier et al.

2020). However, the laboratory trial showed that the proportion of larvae killed and the duration of this effect in *Peromyscus* mice was lower than reported in dogs, suggesting that repeated treatment of small mammals throughout the tick activity season would be essential to effectively disrupt *B. burgdorferi* transmission.

In this non-randomized controlled study, we aimed to test the effect of fluralaner baiting on the infestation of wild small mammals by immature *I. scapularis* ticks in a natural environment, as a first step toward the development of an environmental targeting reservoir hosts. Bait stations were used to experimentally deploy fluralaner baits weekly at two different densities (i.e., 2.1 baits/1000m² and 4.4 baits/1000m²) over a three-year period (2016-2018) in a well-studied deciduous forest site in Southern Québec, Canada, characterized by a high DIT. To assess treatment effectiveness, the number of feeding larvae (FL) and feeding nymphs (FN) on small mammals captured in treated and control plots were compared. We tested the hypothesis that regular deployment of fluralaner baits during the activity period for immature ticks would result in a reduction in the number of ticks per small mammal in treated plots, as killing infesting immature *I. scapularis* represents the first direct effect of reservoir targeted-approaches using acaricidal treatment. The effects of isoxazoline treatment on the transmission cycle of *B. burgdorferi*, and consequently on the DIT, will be the object of a separate investigation.

Material and methods

Experimental site

The experiment took place in a fenced forested area (Figure 5) located within Farnham National Defense facility where LD cases were reported as early as 2009 (Bourré-Tessier et al. 2011). The

site is located in the Estrie region of the province of Québec, Canada, with a reported annual Lyme disease incidence of 12.4 - 47.5 cases per 100 000 people between 2015 and 2020 (MSSS 2021). The habitat on the site is typical of southern Québec: deciduous forest dominated by maple and oak trees with a thick leaf litter layer and a high density (approx. 14 animals per km²) of white-tailed deer (Daigle et al. 2004).

The study was conducted during 2016, 2017 and 2018 and study sites were divided into three 350 x 400 m zones including: one control zone (C) and two treatment zones (T1 and T2). Zones C and T1 were established at the start of the study in 2016 and T2 was added in 2017. The three zones were roughly contiguous but separated by at least 250 m or a large gravel access road and drainage ditches, that were expected to limit the mixing of mouse populations between zones (Figure 5). Each zone contained several 75 x 75 m experimental plots where baits were deployed, and small mammals were captured. To limit spatial dependence, plot borders were separated by a minimum of 150 m, based on the estimated home range of *Peromyscus* mice (Wolff 1985), such that mice from the individual plots were rarely captured in multiple plots. Zones C and T1 had four plots while Zone T2 was limited to three plots because a large wetland limited accessibility to this area for most of the summer (Figure 5).

Treatment

The treatment was delivered to small mammals by placing a bait mixture within mouse-size Protecta RTU bait stations (Bell Laboratories Inc. Madison, WI, USA) distributed evenly within each treated plot. The bait was a mixture of peanut butter and the commercial formulation of fluralaner BravectoTM (Merck Animal Health, Madison, NJ, USA). Both products were mixed to obtain a mixture with a fluralaner concentration of 4.8 mg per g of bait. Stations were supplied

with 250 - 500 mg of bait mixture containing 1.2 - 2.4 mg of fluralaner, i.e., enough to provide a dose of 50 - 100 mg/kg if entirely consumed by a 25 g (range: 12 - 30 g) *Peromyscus* mouse (Smith et al., 2012). Baits were deployed each summer over a six-week period from July 10th-15th until August 23rd-26th to ensure that small mammals had access to the treatment during or before the period of larval activity taking place from the end of July to early September (Ogden et al. 2008). Each week fresh bait was placed into each bait station and the degree of consumption of the previous week's bait were scored as fully consumed, partially consumed or untouched. Any left-over baits were collected and disposed off site. Zone C received no bait. Plots in zone T1 received a bait density of 2.1 per 1000 m² (12 stations per 5.63 km² plot) in 2016, which was increased in 2017 to 4.4 per 1000 m² (25 stations) in 2017 and 2018. Plots in zone T2 received a bait density of 2.1 per 1000 m² in both 2017 and 2018.

Small mammal sampling

Small mammals were captured twice each summer in each study plot. Traps were deployed prior to placing baits in the field (i.e., from the last week of June to the first week of July) and near the end of the period that baits were in the field (i.e., during the last week of July in 2016 and in the 3rd and 4th week of August in 2017 and 2018). The second capture period was later in 2017 and 2018 to ensure small mammals were examined at or near the peak period of larval activity.

Small mammals were captured using Sherman live traps (H.B. Sherman Traps, Tallahassee, FL, USA) and 25 to 35 traps per plot were deployed in a rectangular grid of the same dimensions as the plot (75 x 75 m). Traps were baited with a mixture of peanut butter and oatmeal and supplemented with a slice of apple and water repellent foam to prevent dehydration and

improve capture survival, respectively. Traps were activated at 17h and checked next morning at 6h. Greater trapping effort was applied in plots where trap success was lower to maximize statistical power. In addition, for animal welfare reasons, captures were not performed when the humidity adjusted heat index exceeded 40°C. See [Annexe 1 - Supplementary Table 1](#) for a complete description of the trapping effort and captures.

Traps containing captured small mammals were taken a short distance (<5 km) to a manipulation station where captured animals were anesthetized using an isoflurane vaporizer. Isoflurane was delivered at a concentration of 5% to render animals unconscious and then it was lowered to 1-2% to maintain anaesthesia for a maximum of 20 minutes per mouse. A subcutaneous injection of a maximum 0.3 ml of 0.9% NaCl was administered to animals that were suspected of being dehydrated. The sex, weight and species of each animal was recorded, and mice were only identified in the field to the genus level. Each animal was also visually examined for ticks and the number of larvae and nymphs was recorded. Ticks were removed and a subset were identified using keys (INSPQ 2022) to confirm the species infesting small mammals on our study plots. At first capture, each animal was marked with a unique subcutaneous pit tag (Mini HPT8, Biomark Inc, Boise, ID, USA) and all captured animals were released at the exact location of collection. Any animals recaptured during a sampling period were also released at the site of collection but without processing.

Density of questing ticks

Host-seeking ticks were collected in each plot once per small mammal capture period using drag sampling: dragging a 1-m² piece of white flannel cloth across the forest floor (Rulison et al. 2013). Tick drags were examined for ticks every 25 m on marked transects and any ticks found

were preserved in 70% ethanol for further testing, and identification to life stage and species. In 2016 and 2017, two transects of 75 m within each plot were sampled by period of capture for a total sampling surface of 300 m² by year. In 2018, three transects of 75 m by plot were added to increase the total sampling surface by year to 750 m².

Statistical analysis

Study sample. Only *Peromyscus* spp. mice were included in our analyses because they are the main reservoir host for *B. burgdorferi* in the study region and the primary target of our approach to reduce the DIT in the environment (Donahue et al. 1987, LoGiudice et al. 2003). Statistical analyses were performed on a dataset that included only the first capture of individual mice in each sampling period. Moreover, to avoid potential type I errors caused by data dependency and repeated measures on some animals, animals recaptured between trapping periods were excluded (Clarke 2008).

Outcome variables and treatment exposure. Treatment effect was measured on the number of FL or FN per mouse. These two variables were both used as outcome variables in a generalized linear model (GLM) with a negative binomial distribution to account for overdispersion. Exposure to treatment was modeled as a 3-level factor (0, 2.1 and 4.4 baits per 1000 m²). This variable took the value of 2.1 or 4.4 for treated plots during the capture periods coinciding with the deployment of baits. Treatment exposure had a value of zero during the pre-treatment capture period for all plots.

Covariates and random factors. Variables tested as potential covariates for the number of ticks infesting mice in the dataset were *sex* (male or female), *age* (juvenile, subadult or adult), *season*

(June and July or August), *zone* (C, T1 or T2), *year* of capture (2016, 2017 or 2018) and *density of questing ticks* (log density of either host-seeking nymphs or larvae depending on which outcome was being modeled).

Peromyscus mice were assigned to an age category based on the following weights: < 13g = juvenile, 13 - 16g = subadult and $\geq 17g$ = adult (Martell 1983, Linzey 1989). Age of mice has been shown to influence the number of ticks infesting hosts (Bouchard et al. 2011). Addition of *age* and *sex* were tested as an interaction term as past studies suggested that sexually mature males are more often infested than other age-sex population strata (e.g., Tälleklint and Jaenson 1997, Bouchard et al. 2011). *Season* was used for correction to take phenology of ticks into account (Ogden et al. 2008). The inclusion of *zone* as a covariate was explored to control for the possibility that habitat differences among zones might influence local tick population dynamics. To consider data aggregation, dependency, and to control for unmeasured confounding factors, the variable *plot* was tested as a random intercept in mixed GLM (GLMM).

Model selection. Only covariates with a significant ($P < 0.2$) univariate association with outcome variables were retained for model selection (Dohoo et al. 1997). Associations between each potential covariate were tested with univariate regression to detect collinearity. Variables with an $R^2 > 0.7$ or odds ratios > 8 were considered for exclusion due to high potential of collinearity (Dohoo et al. 2014). Both fixed effect and random effect covariate contributions to the model were tested using log-likelihood ratio test (LRT). Manual backward stepwise elimination was used to sequentially drop variables with the highest *P*-value until every covariate had a significant ($P < 0.05$) contribution to the models. Multicollinearity in the final models was tested with the variance inflation factor ($VIF \geq 10$) and the model fit was analyzed with Pearson

residuals plot and Pearson residual variance test ($P > 0.05$). Spatial autocorrelation was tested with Moran's I test on residuals of the final models ($P > 0.05$).

Infestation reduction. To analyse the effect of the treatment, the adjusted coefficients (β) of the treatment predictors of the selected models with their confidence intervals were extracted and transformed with the following formula:

$$Reduction (\%) = (1 - e^{\beta}) * 100$$

Where e^{β} is the ratio of the number of FL or FN per mouse between treated and control plots from each model. In this way, the formula gives the percent reduction of the number of FL or FN on mice attributable to the treatment (Dohoo et al. 2014).

Software. Statistical analyses were performed using R version 4.0.3 (R Core Team 2021) with lme4 (Bates et al. 2015), performance (Lüdtke et al. 2021), glmmTMB (Brooks et al. 2017), DHARMA (Hartig 2020) and ggplot2 packages (Wickham 2009).

Ethics approval

This study was performed in accordance with the regulation of the Canadian Council for Animal Care and the Ministère de l'Agriculture des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (SEG: 2016SF2052R16, 2017-05-11-2232-16-SF and 2018-3-22-2369-16-S-F). All animal manipulations were performed with the approval of the institutional animal ethics committee of Université de Montréal (16-Rech-1845, 17-Rech-1836 and 18-Rech-1836).

Results

Treatment

In 2017 and 2018, 1496 baits were administered in zone T1 and T2 corresponding to 1.8 and 3.6 g of fluralaner and an overall application density of 14.5 to 29 mg per 1000 m². Of these baits, 1424 (95%) were fully consumed, 24 (2%) partially consumed and 48 were untouched (3%). The proportion of each consumption category was similar when stratified by zone indicating no difference in consumption between zones.

Small mammal sampling

During 2016, 2017 and 2018, a total of 33 nights of sampling were performed and 340 animals were captured (for more details see [Annexe 1 - Supplementary Table 1](#)). In 2016, too few animals were captured in the period before treatment deployment to allow for interpretation of the data and were therefore not analyzed in this study. Based on data from recaptured hosts, only two (0.6%) small mammals switched zones during the study period. Seven (2.1%) animals also switched plots within the same zone. Twenty-eight animals from three species other than the genus *Peromyscus* were captured (Table 14).

Peromyscus mice

Of the 312 mice captured, 62% were male and 71% were adults. Fewer mice were captured in 2016 (12%, 37/312) than in 2017 (41%, 128/312) or in 2018 (47%, 147/312). The average number of larvae and nymphs on mice were higher in 2017 than in 2018 or in 2016 (Table 15, [Annexe 1 - Supplementary Table 2](#)). Between the first and second capture periods of each year, the average number of larvae increased and higher larva numbers were observed as expected

given tick phenology in the control plots yet decreased in the treated zones. Only zone T2 in 2017 did not follow this pattern (Table 15; Figure 6A; [Annexe 1 - Supplementary Table 2](#)). However, in that particular capture period and zone, a subgroup of mice ($n = 7$) had large numbers of infesting larvae (> 25) while other mice had very few (≤ 5 larvae). Conversely, the average number of FN decreased between early and late season capture periods in both control and treated zones (Table 15), an observation confirmed by the distribution of the number of FN per mouse (Figure 6B).

Model selection and effect of the treatment

Feeding larvae (FL). The univariate and multivariate analysis did not exclude any variables for model 1 (FL per mouse). Inclusion of the variable *plot* as a random intercept showed non-significant contribution to this model (LRT, 0, $P = 1$). In the final model, the variables *season* and *density of questing larvae* showed a high level of collinearity ($VIF \geq 10$). Therefore, two competing models were built: model 1a keeping *season* as covariable and model 1b keeping *density of questing larvae* ([Annexe 1 - Supplementary Table 3](#)). Model 1b was rejected because the Pearson residual test showed a significant residual variance ($P = 0.037$) suggesting a worse fit compared to model 1a ($P = 0.160$). Model 1a showed no residual spatial dependency (Moran's I, $P = 0.612$).

In the selected model (Table 16), bait densities of 2.1 and 4.4/1000 m² were associated with a reduction of 68% (CI95: 51 - 79%) and 86% (CI95: 77 - 92%) in the number of larvae feeding on mice (Figure 7).

Feeding nymphs (FN). In model 2 (FN per mouse), univariate analysis excluded the variable *zone* (LRT, 0.5, $P = 0.918$). Variables *year* and *density of host-seeking nymphs* showed high collinearity ($R^2 = 0.74$). Therefore, two competing models were built: model 2a keeping *year* of capture as covariate and model 2b keeping *density of host-seeking nymphs* ([Annexe 1 - Supplementary Table 3](#)). In both models, both the interaction term between *age* and *sex* (2a: LRT, 3.0, $P = 0.223$ and 2b: 3.2, $P = 0.197$) and *age* (2a: 3.2, $P = 0.201$ and 2b: 4.0, $P = 0.137$) were dropped. Inclusion of *plot* as a random intercept resulted in no significant improvement in either model (LRT, 0, $P = 1$). Both final models did not show moderate or high multicollinearity ($VIF \geq 5$). Pearson residual tests for model 2a ($P = 0.319$) and 2b ($P = 0.238$) were not significant. Model 2a was retained as the final model based on mathematical criteria. It presented a smaller residual variance than model 2b (Supp. Table S3). Model 2a (Morans's I, $P = 0.207$) showed no residual spatial autocorrelation.

In this model (Table 17), only the 4.4 bait density showed a significant negative association with the number of nymphs per mouse, resulting in a reduction of 72% (CI95: 22 - 90%; Figure 7).

Discussion

In this 3-year trial, fluralaner baits deployed in a natural environment decreased the number of immature *I. scapularis* ticks infesting *Peromyscus* mice. These results demonstrate that oral baiting with fluralaner can kill a significant proportion (up to 86% of FL and 72% of FN at the highest bait density) of immature *I. scapularis* ticks feeding on a key reservoir host of *B. burgdorferi* in northeastern North America (Levine et al. 1985, Mather et al. 1989, Rand et al. 1993, Bouchard et al. 2011). Therefore, results support the hypothesis that a treatment like the

one used in this study has the potential to reduce the DIT, particularly in areas where the *B. burgdorferi* endemic cycle is mainly driven by *Peromyscus* mice.

Treatment outcomes varied with bait density, highlighting the impact of treatment strategy on efficacy at reducing tick burdens and, ultimately, on decreasing the DIT. We suspect that the proportion of animals that are treated is an important factor that could influence the association between the treatment and tick infestation of mice. In this study, the difference in effectiveness between the 4.4 and 2.1 baits/1000m² could be explained by a different proportion of treated mice and/or by different amounts of acaricide administered to mice that consumed baits. These hypotheses were not tested in the current study. Our objective was to measure the effect of different densities of baits in the field on the number of *I. scapularis* larvae or nymphs infesting the resident population of small mammals. All mice captured in active treatment zones were therefore classified as treated rather than attempting to measure the treatment status of individual mice. Future studies should investigate relationships between the treatment strategy, including bait deployment, and small mammal population dynamics. In this regard, it could be important for the design of large-scale interventions to characterize the treatment distribution among small mammal populations, and the association between spatial distribution of baits and the proportion of effectively treated small mammals. The potential positive effect of large-scale interventions on small mammal populations is also worth investigating since bait deployment, which increases local food availability, could potentially increase small mammal population density and thus the DIT (Ostfeld et al., 2006). The development of baits without nutritional value (Richer et al. 2014, Stafford et al. 2020) also

represents an interesting avenue since it would reduce the potential effect of bait deployment on small mammal populations.

In 2004, Dolan et al deployed up to 1,770 bait boxes treated with a fipronil cotton wick over three years between May and September; and they reported a monthly reduction of the mean number of immature *I. scapularis* ticks on mice between 45-96% during application of the treatment. Schulze et al (2017) deployed 78 units of the same device on 10 properties from mid-May to July in 2012 and 2013. They showed a reduction of mean ticks per captured animal between 81-100% in treated plots depending on the immature tick stage and the year of observation (Schulze et al. 2017). Studies using topical permethrin tubes also showed similar results (Deblinger & Rimmer, 1991; Mejlou et al., 1995). Deblinger and Rimmer (1991) deployed 0.05 tubes/1000m² from 1987 to 1989. They administered permethrin to small mammal population once in 1987 and twice in 1988 and 1989, and showed a 100% reduction of larval and nymphal abundance on *P. leucopus* mice (Deblinger & Rimmer, 1991). These studies all demonstrated an effect of the treatment of small mammals on the DIT. However, other studies using similar approaches showed a reduction of the infestation of small mammals but no observable effect on the density of host-seeking ticks (Daniels et al., 2009; Stafford, 1992). For example, Daniels et al. (1991) deployed 100 permethrin-treated devices on sites in different landscape settings once in August 1987 and twice (May & July) in 1988, resulting in a decreased proportion of infested *P. leucopus* mice, yet no significant effect on the DIT. However, results between studies investigating different reservoir targeted approaches remain difficult to compare because of differences in acaricide deployment protocols, mechanisms of action

(systemic for fluralaner versus contact toxicity for permethrin), ecological context and statistical analyses.

In this study, we aimed to quantify the temporal effect of fluralaner treatment by having a control period prior bait deployment in each plot. This design provides a longitudinal baseline for treated plots in addition to the comparison with control plots. In 2016, pre-treatment infestation data were not available due to unusually low trapping success. This may have resulted in an underestimation of treatment effectiveness, particularly in terms of FN per mouse. It is unlikely that, at the scale of our study, the local abundance of questing larvae was strongly impacted by the treatment because of dispersal of engorged female from adjacent untreated landscapes by other hosts such as white-tailed deer (Stafford 1992). However, cohorts of nymphs are highly influenced by cohorts of larvae from the previous year (Dumas et al. 2022). Larval cohorts on which the treatment may have had an effect in 2016 and in 2017 should therefore lower densities of host-seeking nymphs the next year. Another limitation is related to the observation that FL and FN do not necessarily fall off the host immediately when they are killed (Pelletier et al 2020). In the present study, all feeding ticks were included in the number of ticks per mouse regardless whether they appeared alive or dead, which may have resulted in an underestimation of the treatment effect.

There are many reasons why killing ticks infesting small mammals may not translate into a reduction of the DIT (Eisen 2021, Hinckley et al. 2021). Ecological determinants of the *B. burgdorferi* endemic cycle are likely to modulate the effect of reservoir-targeted approaches. In particular, host community composition may influence treatment effectiveness in several ways (Eisen, 2021a; Eisen & Dolan, 2016; Tsao et al., 2004). First, species other than *Peromyscus* mice

such as shrews, ground foraging birds and chipmunks are competent reservoir-hosts and contribute to the maintenance of *B. burgdorferi* (Brisson et al., 2008; Ginsberg et al., 2005; LoGiudice et al., 2003; Reed et al., 2003; Slajchert et al., 1997). The baits used in our study are likely less attractive to fossorial insectivore like shrews, and the design of the stations excluded chipmunks and other species that were too large to enter (although future studies could include these species by using larger bait stations like SELECT TCS bait boxes, Tick Box Technology Corporation, Norwalk, CT). Tsao et al (2004), in their study targeting *Peromyscus* mice with a *B. burgdorferi* vaccine, observed that their treatment was less effective at specific sites, and that nymphs at those sites carried different *B. burgdorferi* strains than the ones that commonly infect *Peromyscus* mice. This observation supports the notion that other reservoir species are involved in *B. burgdorferi* endemic cycles (Tsao et al., 2004). In addition, the contribution of white-tailed deer and other hosts of adult ticks, to tick reproduction and population growth may also mitigate the effect of reservoir-targeted interventions on the DIT. High white-tailed deer densities are associated with high *I. scapularis* tick densities in central and eastern North America (Bouchard et al., 2013; Rand et al., 2003; Wilson et al., 1985). They could contribute to increased density of host-seeking ticks in treated zones by dispersing engorged adult female ticks from untreated zones, with each female tick giving rise to thousands of host-seeking larvae (Piesman & Gern, 2004). By adding ticks in the environment, they increase the probability of immature ticks feeding upon infected untreated small mammals and could mitigate the effect of the treatment on the DIT. White-tailed deer can also contribute to feeding a proportion of larvae and nymphs thus preventing them from being exposed to the treatment (Goethert et al. 2021).

In conclusion, this study showed that the administration of an isoxazoline treatment to small mammals in a natural environment using bait stations effectively reduced infestation of a key wildlife reservoir of *B. burgdorferi* in nature by *I. scapularis* larvae and nymphs. This study represents a first step in the development of a reservoir-targeted approach using isoxazolines that aimed at disrupting the *B. burgdorferi* endemic cycle, reducing the DIT in the environment and preventing transmission of *B. burgdorferi* to humans or pets. This approach has the potential to offer a promising new tool for LD prevention and its use could serve as a component of an integrated vector management strategy provided that isoxazolines are licensed for use in wildlife. In this regard, in addition to confirming the effectiveness at reducing the DIT, more investigations of reservoir-targeted approach using isoxazolines are needed to determine their cost-efficacy, the broader environmental impacts of the treatment (e.g., safety for mice and predators eating treated prey), and potential development of acaricide resistance following repeated treatment.

Acknowledgements.

We thank Université de Montréal, the Institut national de santé publique du Québec (INSPQ) and a Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) discovery grant to P. Leighton (#03793-2014), which funded this study. We addressed our deep gratitude to Robert Werbiski and Franck Siriex, from the Canadian Armed Forces, for their collaboration in making this study possible. We also thank all field assistants who participated in this study; this work would not have been possible without their efforts.

JP, JPR, CA, NHO, LRL, CB and PAL participated in the study design and protocol. JP and GDM conducted the field trial. JP conducted statistical analysis and wrote the manuscript. All authors revised the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

References

Aenishaenslin C., Pelletier J., Potes L., Rocheleau J.-P., Bouchard C., and Leighton P. 2021.

Développement et évaluation d'une intervention *Une seule santé* pour réduire le risque de maladie de Lyme à Bromont - Rapport final. Project report. Université de Montréal, Montréal.

Aenishaenslin, C., K. Charland, N. Bower, E. Perez-Trejo, G. Baron, F. Milord, and C. Bouchard.

2022. Behavioral risk factors associated with tick exposure in a Lyme disease high incidence region in Canada. *BMC Public Health* 22, 807.

Baker, C. F., J. W. McCall, S. D. McCall, M. D. Drag, E. B. Mitchell, S. T. Chester, and D. Larsen.

2016. Ability of an oral formulation of afoxolaner to protect dogs from *Borrelia burgdorferi* infection transmitted by wild *Ixodes scapularis* ticks. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 49: 65-69.

Bates, D., M. Maechler, B. Bolker, and S. Walker. 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models

Using lme4. *J Stat Softw* 67: 1-48.

Berry, K., J. Bayham, S. R. Meyer, and E. P. Fenichel. 2018. The allocation of time and risk of

Lyme: a case of ecosystem service income and substitution effects. *Environ Resour Econ* 70: 631-650.

Bouchard, C., G. Beauchamp, S. Nguon, L. Trudel, F. Milord, L. R. Lindsay, D. Bélanger, and N. H.

Ogden. 2011. Associations between *Ixodes scapularis* ticks and small mammal hosts in a

- newly endemic zone in southeastern Canada: implications for *Borrelia burgdorferi* transmission. *Ticks Tick Borne Dis* 2: 183-190.
- Bouchard, C., P. A. Leighton, G. Beauchamp, S. Nguon, L. Trudel, F. Milord, L. R. Lindsay, D. Belanger, and N. H. Ogden. 2013. Harvested white-tailed deer as sentinel hosts for early establishing *Ixodes scapularis* populations and risk from vector-borne zoonoses in southeastern Canada. *J med entomol* 50: 384-393.
- Bouchard, C., E. Leonard, J. K. Koffi, Y. Pelcat, A. Peregrine, N. Chilton, K. Rochon, T. Lysyk, L. R. Lindsay, and N. H. Ogden. 2015. The increasing risk of Lyme disease in Canada. *Can Vet J* 56: 693-699.
- Bourré-Tessier, J., F. Milord, C. Pineau, and E. Vinet. 2011. Indigenous Lyme disease in Quebec. *J Rheumatol* 38: 183.
- Brisson, D., D. E. Dykhuizen, and R. S. Ostfeld. 2008. Conspicuous impacts of inconspicuous hosts on the Lyme disease epidemic. *Proc Biol Sci* 275: 227-235.
- Brooks, M. E., K. Kristensen, K. J. van Benthem, A. Magnusson, C. W. Berg, A. Nielsen, H. J. Skaug, M. Maechler, and B. M. Bolker. 2017. glmmTMB balances speed and flexibility among packages for zero-inflated generalized linear mixed modeling. *R J.* 9: 378 - 400.
- Cavalleri, D., M. Murphy, W. Seewald, J. Drake, and S. Nanchen. 2018. Laboratory evaluation of the efficacy and speed of kill of lotilaner (Credelio™) against *Ixodes ricinus* ticks on cats. *Parasit Vectors* 11: 413.
- Clarke, P. 2008. When can group level clustering be ignored? Multilevel models versus single-level models with sparse data. *J Epidemiol Community Health* 62: 752-758.

- Committee for Medicinal Products for Veterinary Use (CVMP). 2014. CVMP assessment report for Bravecto (EMA/V/C/002526/0000), pp. 22. Veterinary Medical Division. European Medicine Agency, Amsterdam. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/bravecto-epar-public-assessment-report_en.pdf
- Daigle, C., M. Crête, L. Lesage, J.-P. Ouellet, and J. Huot. 2004. Summer diet of two white-tailed deer, *Odocoileus virginianus*, populations living at low and high density in southern Québec. *The Canadian Field-Naturalist* 118: 360-367.
- Daniels, T. J., D. Fish, and R. C. Falco. 1991. Evaluation of host-targeted acaricide for reducing risk of Lyme disease in southern New York state. *J Med Entomol* 28: 537-543.
- Deblinger, R. D., and D. W. Rimmer. 1991. Efficacy of a permethrin-based acaricide to reduce the abundance of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol* 28: 708-711.
- Derdáková, M., V. Dudiòák, B. Brei, J. S. Brownstein, I. Schwartz, and D. Fish. 2004. Interaction and transmission of two *Borrelia burgdorferi sensu stricto* strains in a tick-rodent maintenance system. *Appl Environ Microbiol* 70: 6783-6788.
- Dohoo, I. R., Ducrot, C., Fourichon, C., Donald, A., & Hurnik, D. (1997). An overview of techniques for dealing with large numbers of independent variables in epidemiologic studies. *Prev Vet Med*, 29(3), 221-239. [https://doi.org/10.1016/s0167-5877\(96\)01074-4](https://doi.org/10.1016/s0167-5877(96)01074-4)
- Dohoo, I. R., W. Martin, and H. Stryhn. 2014. *Veterinary epidemiologic research*, 2nd ed. VER Inc., Charlottetown (PEI), Canada.
- Dolan, M. C., T. L. Schulze, R. A. Jordan, C. J. Schulze, A. J. Ullmann, A. Hojgaard, M. A. Williams, and J. Piesman. 2017. Evaluation of doxycycline-laden oral bait and topical fipronil

- delivered in a single bait box to control *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) and reduce *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum* infection in small mammal reservoirs and host-seeking ticks. J Med Entomol 54: 403-410
- Dolan, M. C., G. O. Maupin, B. S. Schneider, C. Denatale, N. Hamon, C. Cole, N. S. Zeidner, and K. C. Stafford, 3rd. 2004. Control of immature *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) on rodent reservoirs of *Borrelia burgdorferi* in a residential community of southeastern Connecticut. J Med Entomol 41: 1043-1054.
- Donahue, J. G., J. Piesman, and A. Spielman. 1987. Reservoir competence of white-footed mice for Lyme disease spirochetes. Am J Trop Med Hyg 36: 92-96.
- Dumas, A., C. Bouchard, L. R. Lindsay, N. H. Ogden, and P. A. Leighton. 2022. Fine-scale determinants of the spatiotemporal distribution of *Ixodes scapularis* in Quebec (Canada). Ticks Tick Borne Dis 13: 101833.
- Eisen, L. 2021. Control of ixodid ticks and prevention of tick-borne diseases in the United States: the prospect of a new Lyme disease vaccine and the continuing problem with tick exposure on residential properties. Ticks Tick Borne Dis 12: 1877-9603.
- Eisen, L., and M. C. Dolan. 2016. Evidence for Personal Protective Measures to Reduce Human Contact With Blacklegged Ticks and for Environmentally Based Control Methods to Suppress Host-Seeking Blacklegged Ticks and Reduce Infection with Lyme Disease Spirochetes in Tick Vectors and Rodent Reservoirs. J Med Entomol 53: 1063-1092.
- Eisen, R. J., and L. Eisen. 2018. The blacklegged tick, *Ixodes scapularis*: an increasing public health concern. Trends Parasitol 34: 295-309.

- Eisen, R. J., J. Piesman, E. Zielinski-Gutierrez, and L. Eisen. 2012. What do we need to know about disease ecology to prevent Lyme disease in the northeastern United States? *J Med Entomol* 49: 11-22.
- Fischhoff, I. R., S. E. Bowden, F. Keesing, and R. S. Ostfeld. 2019. Systematic review and meta-analysis of tick-borne disease risk factors in residential yards, neighborhoods, and beyond. *BMC Infect Dis* 19: 861.
- Gaff, H., R. J. Eisen, L. Eisen, R. Nadolny, J. Bjork, and A. J. Monaghan. 2020. LYMESIM 2.0: An updated simulation of blacklegged tick (Acari: Ixodidae) population dynamics and enzootic transmission of *Borrelia burgdorferi* (Spirochaetales: Spirochaetaceae). *J Med Entomol* 57: 715-727.
- Gassel, M., C. Wolf, S. Noack, H. Williams, and T. Ilg. 2014. The novel isoxazoline ectoparasiticide fluralaner: selective inhibition of arthropod gamma-aminobutyric acid- and L-glutamate-gated chloride channels and insecticidal/acaricidal activity. *Insect Mol Biol* 45: 111-124.
- Geurden, T., S. Borowski, M. Wozniakiewicz, V. King, J. Fourie, and J. Liebenberg. 2017. Comparative efficacy of a new spot-on combination product containing selamectin and sarolaner (Stronghold™ plus) versus fluralaner (Bravecto™) against induced infestations with *Ixodes ricinus* ticks on cats. *Parasit Vectors* 10: 319.
- Ginsberg, H. S., P. A. Buckley, M. G. Balmforth, E. Zhioua, S. Mitra, and F. G. Buckley. 2005. Reservoir competence of native North American birds for the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*. *J Med Entomol* 42: 445-449.
- Goethert, H. K., T. N. Mather, J. Buchthal, and S. R. Telford, 3rd. 2021. Retrotransposon-Based Blood Meal Analysis of Nymphal Deer Ticks Demonstrates Spatiotemporal Diversity of

- Borrelia burgdorferi* and *Babesia microti* Reservoirs. *Appl Environ Microbiol.* 87(2): e02370-20.
- Hanincová, K., N. H. Ogden, M. Diuk-Wasser, C. J. Pappas, R. Iyer, D. Fish, I. Schwartz, and K. Kurtenbach. 2008. Fitness variation of *Borrelia burgdorferi sensu stricto* strains in mice. *Appl Environ Microbiol* 74: 153-157.
- Hartig, F. 2020. DHARMA: residual diagnostics for hierarchical (multi-Level / mixed) regression models. <https://cran.r-project.org/web/packages/DHARMA/index.html>
- Hinckley, A. F., S. A. Niesobecki, N. P. Connally, S. A. Hook, B. J. Biggerstaff, K. A. Horiuchi, A. Hojgaard, P. S. Mead, and J. I. Meek. 2021. Prevention of Lyme and other tick-borne diseases using a rodent-targeted approach: a randomized controlled trial in Connecticut. *Zoonoses Public Health* 68: 578-587.
- Honsberger, N. A., R. H. Six, T. J. Heinz, A. Weber, S. P. Mahabir, and T. C. Berg. 2016. Efficacy of sarolaner in the prevention of *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum* transmission from infected *Ixodes scapularis* to dogs. *Vet Parasitol* 222: 67-72.
- Institut Nationale de Santé Publique du Québec (INSPQ). 2022. Identification guide for ticks found in *Québec*. Government of Québec. <https://www.inspq.qc.ca/en/identification-guide-ticks-found-quebec>
- Kitron, U., and J. J. Kazmierczak. 1997. Spatial analysis of the distribution of Lyme disease in Wisconsin. *Am J Epidemiol* 145: 558-566.
- Lane, R. S., L. E. Casher, C. A. Peavey, and J. Piesman. 1998. A better tick-control trap: Modified bait tube controls disease-carrying ticks and fleas. *Hilgardia* 52: 43-47.

- Lane, R. S., S. A. Manweiler, H. A. Stubbs, E. T. Lennette, J. E. Madigan, and P. E. Lavoie. 1992. Risk factors for Lyme disease in a small rural community in northern California. *Am J Epidemiol* 136: 1358-1368.
- Leighton, P. A., J. K. Koffi, Y. Pelcat, L. R. Lindsay, and N. H. Ogden. 2012. Predicting the speed of tick invasion: an empirical model of range expansion for the Lyme disease vector *Ixodes scapularis* in Canada. *J Appl Ecol* 49: 457-464.
- Levine, J. F., M. L. Wilson, and A. Spielman. 1985. Mice as reservoirs of the Lyme disease spirochete. *Am J Epidemiol* 122: 355-360.
- Ley, C., E. M. Olshen, and A. L. Reingold. 1995. Case-control study of risk factors for incident Lyme disease in California. *Am J Epidemiol* 142: S39-47.
- Lindsay, L. R., Baker, I. K., Surgeoner, G. A., McEwen, S. A., and Campbell, G. D. 1997. Duration of *Borrelia burgdorferi* infectivity in white-footed mice for the tick vector *Ixodes scapularis* under laboratory and field conditions in Ontario. *J Wildl Dis.* 33(4), 766-775.
- Linzey, A. V. 1989. Response of the white-footed mouse (*Peromyscus leucopus*) to the transition between disturbed and undisturbed habitats. *Can J Zool* 67: 505-512.
- 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. *PNAS* 100: 567-571.
- Lüdecke, D., M. S. Ben-Shachar, I. Patil, P. Waggoner, and D. Makowski. 2021. performance: an R Package for assessment, comparison and testing of statistical models. *J Open Source Softw* 60: 3139.

- Mac, S., S. R. da Silva, and B. Sander. 2019. The economic burden of Lyme disease and the cost-effectiveness of Lyme disease interventions: a scoping review. *PLoS One* 14: e0210280.
- Mac, S., G. A. Evans, S. N. Patel, E. M. Pullenayegum, and B. Sander. 2021. Estimating the population health burden of Lyme disease in Ontario, Canada: a microsimulation modelling approach. *CMAJ*: 16;9(4):e1005-e1012.
- Martell, A. M. 1983. Demography of southern red-backed voles (*Clethrionomys gapperi*) and deer mice (*Peromyscus maniculatus*) after logging in north-central Ontario. *Can J Zool* 61: 958-969.
- Mather, T. N., J. M. C. Ribeiro, S. I. Moore, and A. Spielman. 1988. Reducing transmission of Lyme disease spirochetes in a suburban setting. *Ann N Y Acad Sci* 539: 402-403.
- 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.
- McTier, T. L., R. H. Six, J. J. Fourie, A. Pullins, L. Hedges, S. P. Mahabir, and M. R. Myers. 2016. Determination of the effective dose of a novel oral formulation of sarolaner (Simparica™) for the treatment and month-long control of fleas and ticks on dogs. *Vet Parasitol* 222: 12-17.
- Mead, P., S. Hook, S. Niesobecki, J. Ray, J. Meek, M. Delorey, C. Prue, and A. Hinckley. 2018. Risk factors for tick exposure in suburban settings in the Northeastern United States. *Ticks Tick Borne Dis* 9: 319-324.

- Mejlon, H. A., T. G. Jaenson, and T. N. Mather. 1995. Evaluation of host-targeted applications of permethrin for control of *Borrelia*-infected *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae). *Med Vet Entomol* 9: 207-210.
- Ministère de la Santé et des Services Sociaux (MSSS). 2021. Maladie de Lyme: Tableau des cas humains - Archives 2014 à 2020. Gouvernement of Québec, Québec.
<https://www.msss.gouv.qc.ca/professionnels/zoonoses/maladie-lyme/tableau-des-cas-humains-lyme-archives/>
- Murphy, M., R. Garcia, D. Karadzovska, D. Cavalleri, D. Snyder, W. Seewald, T. Real, J. Drake, S. Wiseman, and S. Nanchen. 2017. Laboratory evaluations of the immediate and sustained efficacy of lotilaner (Credelio™) against four common species of ticks affecting dogs in North America. *Parasit Vectors* 10: 523.
- Ogden, N. H., L. R. Lindsay, M. Morshed, P. N. Sockett, and H. Artsob. 2009. The emergence of Lyme disease in Canada. *CMAJ : Canadian Medical Association journal* 180: 1221-1224.
- Ogden, N. H., M. Bigras-Poulin, K. Hanincová, A. Maarouf, C. J. O'Callaghan, and K. Kurtenbach. 2008. Projected effects of climate change on tick phenology and fitness of pathogens transmitted by the North American tick *Ixodes scapularis*. *J Theor Biol* 254: 621-632.
- Ostfeld, R. S., A. Price, V. L. Hornbostel, M. A. Benjamin, and F. Keesing. 2006. Controlling ticks and tick-borne zoonoses with biological and chemical agents. *BioScience* 56: 383-394.
- Patrican, L. A. 1997. Absence of Lyme disease spirochetes in larval progeny of naturally infected *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) fed on dogs. *J Med Entomol* 34: 52-55.
- Pelletier, J., J.-P. Rocheleau, C. Aenishaenslin, F. Beaudry, G. Dimitri Masson, L. R. Lindsay, N. H. Ogden, C. Bouchard, and P. A. Leighton. 2020. Evaluation of fluralaner as an oral

- acaricide to reduce tick infestation in a wild rodent reservoir of Lyme disease. *Parasit Vectors* 13: 73.
- Pepin, K. M., R. J. Eisen, P. S. Mead, J. Piesman, D. Fish, A. G. Hoen, A. G. Barbour, S. Hamer, and M. A. Diuk-Wasser. 2012. Geographic variation in the relationship between human Lyme disease incidence and density of infected host-seeking *Ixodes scapularis* nymphs in the Eastern United States. *Am J Trop Med Hyg* 86: 1062-1071.
- Piesman, J., and A. Spielman. 1979. Host-associations and seasonal abundance of immature *Ixodes dammini* in southeastern Massachusetts. *Ann Entomol Soc Am* 72: 829-832.
- Piesman, J., and C. M. Happ. 2001. The efficacy of co-feeding as a means of maintaining *Borrelia burgdorferi*: a North American model system. *J Vector Ecol* 26: 216-220.
- Piesman, J., and L. Gern. 2004. Lyme borreliosis in Europe and North America. *Parasitology* 129 Suppl: S191-S220.
- Poché, D. M., K. Dawson, B. Tseveenjav, and R. M. Poché. 2021. Efficacy of low-dose fipronil bait against blacklegged tick (*Ixodes scapularis*) larvae feeding on white-footed mice (*Peromyscus leucopus*) under simulated field conditions. *Parasites & Vectors* 14: 459.
- Poché, D. M., G. Franckowiak, T. Clarke, B. Tseveenjav, L. Polyakova, and R. M. Poché. 2020. Efficacy of a low dose fipronil bait against blacklegged tick (*Ixodes scapularis*) larvae feeding on white-footed mice (*Peromyscus leucopus*) under laboratory conditions. *Parasites & Vectors* 13: 391.
- Rand, P. W., E. H. Lacombe, R. P. Smith, Jr., S. M. Rich, C. W. Kilpatrick, C. A. Dragoni, and D. Caporale. 1993. Competence of *Peromyscus maniculatus* (Rodentia: Cricetidae) as a

- reservoir host for *Borrelia burgdorferi* (Spirochaetales: Spirochaetaceae) in the wild. J Med Entomol 30: 614-618.
- Rand, P. W., C. Lubelczyk, G. R. Lavigne, S. Elias, M. S. Holman, E. H. Lacombe, and R. P. J. Smith. 2003. Deer density and the abundance of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). J Med Entomol 40: 179-184.
- Reed, K. D., J. K. Meece, J. S. Henkel, and S. K. Shukla. 2003. Birds, migration and emerging zoonoses: west nile virus, lyme disease, influenza A and enteropathogens. Clin Med Res 1: 5-12.
- Richer, L. M., D. Brisson, R. Melo, R. S. Ostfeld, N. Zeidner, and M. Gomes-Solecki. 2014. Reservoir targeted vaccine against *Borrelia burgdorferi*: a new strategy to prevent Lyme disease transmission. J Infect Dis 209: 1972-1980.
- Rulison, E. L., I. Kuczaj, G. Pang, G. J. Hickling, J. I. Tsao, and H. S. Ginsberg. 2013. Flagging versus dragging as sampling methods for nymphal *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). J Vector Ecol 38: 163-167.
- Schulze, T. L., R. A. Jordan, M. Williams, and M. C. Dolan. 2017. Evaluation of the SELECT tick control system (TCS), a host-targeted bait box, to reduce exposure to *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in a Lyme disease endemic area of New Jersey. J Med Entomol 54: 1019-1024.
- Scoles, G. A., M. Papero, L. Beati, and D. Fish. 2001. A relapsing fever group spirochete transmitted by *Ixodes scapularis* ticks. Vector Borne Zoonotic Dis 1: 21-34.
- Shoop, W. L., E. J. Hartline, B. R. Gould, M. E. Waddell, R. G. McDowell, J. B. Kinney, G. P. Lahm, J. K. Long, M. Xu, T. Wagerle, G. S. Jones, R. F. Dietrich, D. Cordova, M. E. Schroeder, D. F.

- Rhoades, E. A. Benner, and P. N. Confalone. 2014. Discovery and mode of action of afoxolaner, a new isoxazoline parasiticide for dogs. *Vet parasitol* 201: 179-189.
- Six, R. H., D. R. Young, M. R. Myers, and S. P. Mahabir. 2016. Comparative speed of kill of sarolaner (Simparica) and afoxolaner (NexGard) against induced infestations of *Ixodes scapularis* on dogs. *Parasit Vectors* 9: 79.
- 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. *J Wildl Dis* 33: 40-46.
- Smith, P. C., J. A. Carlson Scholz, and S. R. Wilson. 2012. Deer mice, white-footed mice, and their relatives, pp. 1075-1088. In M. A. Suckow, K. A. Stevens and R. P. Wilson (eds.), *The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents*. Academic Press, Cambridge, MA, USA.
- Smith, P. F., J. L. Benach, D. J. White, D. F. Stroup, and D. L. Morse. 1988. Occupational risk of Lyme disease in endemic areas of New York state. *Ann N Y Acad Sci* 539: 289-301.
- Stafford, K. C., 3rd, S. C. Williams, J. G. van Oosterwijk, M. A. Linske, S. Zatechka, L. M. Richer, G. Molaei, C. Przybyszewski, and S. K. Wikel. 2020. Field evaluation of a novel oral reservoir-targeted vaccine against *Borrelia burgdorferi* utilizing an inactivated whole-cell bacterial antigen expression vehicle. *Exp Appl Acarol* 80: 257-268.
- Stafford, K. C. 3rd. 1992. Third-year evaluation of host-targeted permethrin for the control of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) in southeastern Connecticut. *J Med Entomol* 29: 717-720.

- Tälleklint, L., and T. G. Jaenson. 1997. Infestation of mammals by *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae) in south-central Sweden. *Exp Appl Acarol* 12: 755-551.
- R Core Teams. 2021. R: a language and environment for statistical computing, R Foundation for Statistical, Vienna.
- Telford, S. R., 3rd, T. N. Mather, G. H. Adler, and A. Spielman. 1990. Short-tailed shrews as reservoirs of the agents of Lyme disease and human babesiosis. *J Parasitol* 76: 681-683.
- 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. *PNAS* 101: 18159-18164.
- Vandekerckhove, O., E. De Buck, and E. Van Wijngaerden. 2019. Lyme disease in Western Europe: an emerging problem? A systematic review. *Acta Clin Belg*: 76(3):244-252.
- Walther, F. M., M. J. Allan, R. K. Roepke, and M. C. Nuernberger. 2014. Safety of fluralaner chewable tablets (Bravecto), a novel systemic antiparasitic drug, in dogs after oral administration. *Parasit Vectors* 7: 87.
- Wengenmayer, C., H. Williams, E. Zschiesche, A. Moritz, J. Langenstein, R. K. A. Roepke, and A. R. Heckerth. 2014. The speed of kill of fluralaner (Bravecto™) against *Ixodes ricinus* ticks on dogs. *Parasit Vectors* 7: 525.
- Wickham, H. 2009. *ggplot2: elegant graphics for data analysis*, Springer-Verlag, New York.
- Wilson, M. L., G. H. Adler, and A. Spielman. 1985. Correlation between abundance of deer and that of the deer tick, *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). *Ann Entomol Soc Am* 78: 172-176.
- Wolff, J. O. 1985. The effects of density, food, and interspecific interference on home range size in *Peromyscus leucopus* and *Peromyscus maniculatus*. *Can J Zool* 63: 2657-2662.

Zhang, X., M. I. Meltzer, C. A. Peña, A. B. Hopkins, L. Wroth, and A. D. Fix. 2006. Economic impact of Lyme disease. *Emerg Infect Dis* 12: 653-660.

Figures

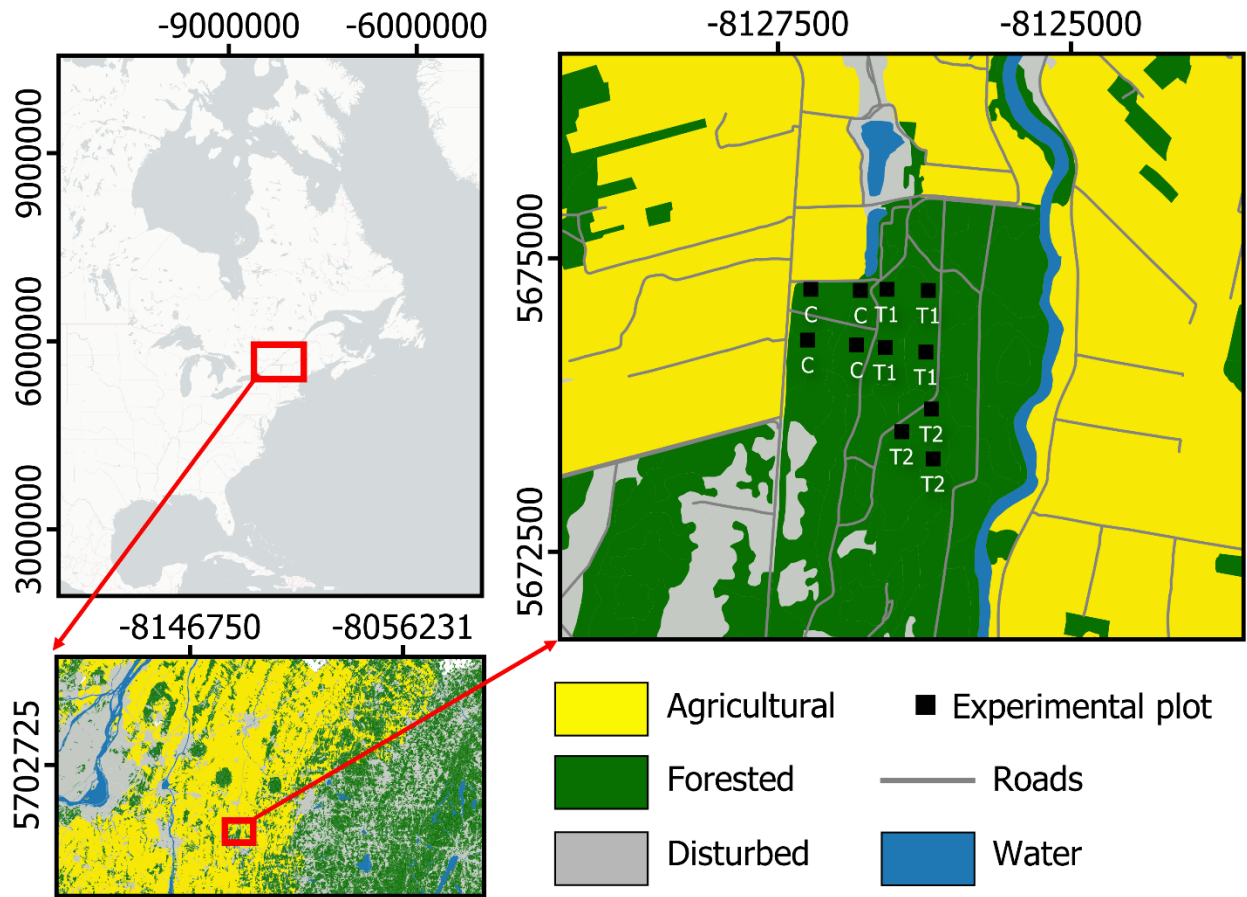


Figure 5. Location of the study site in northeastern North America and in southern *Québec*, Canada, and the location of plots within the study site.

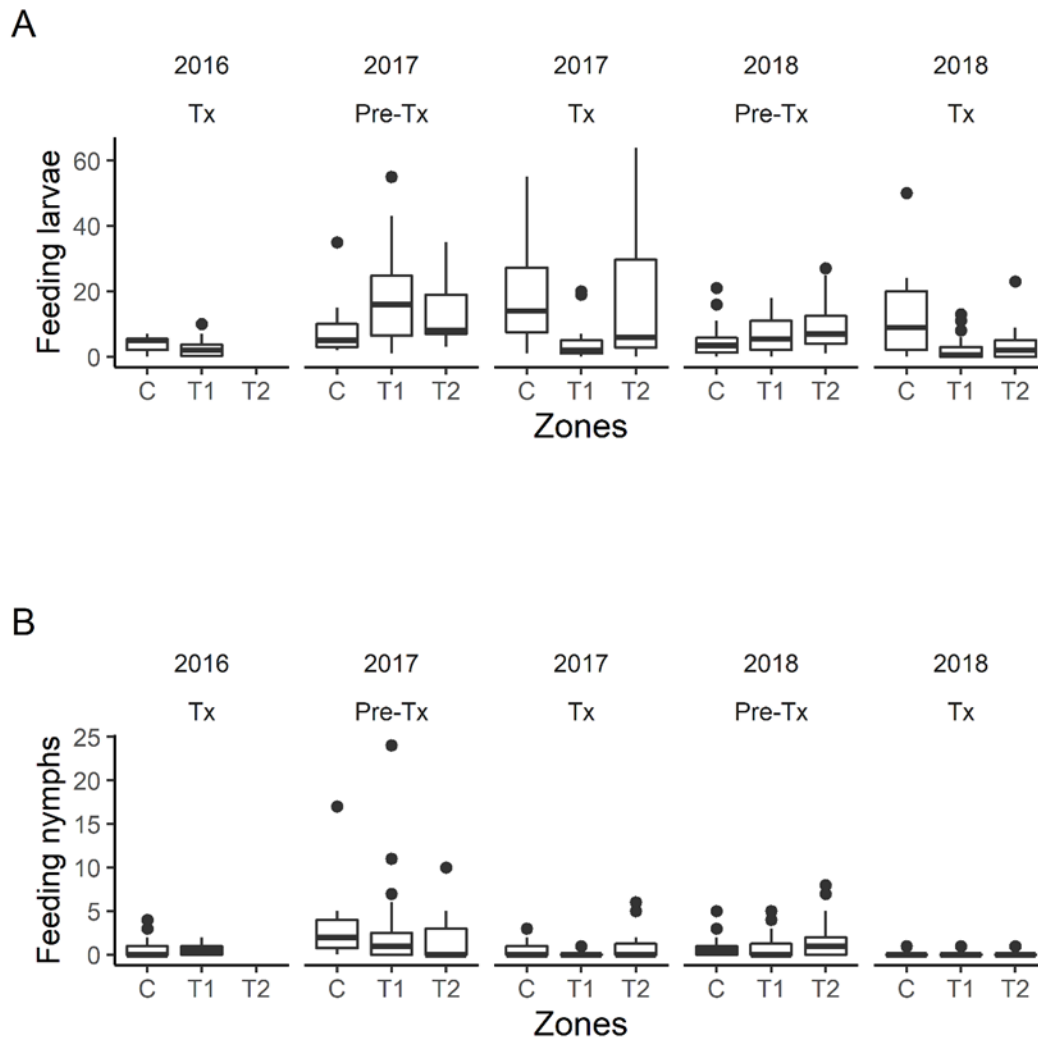


Figure 6. Boxplots of the number of feeding larvae (A) and feeding nymphs (B) per captured *Peromyscus* mouse by zone, year and period of capture. Pre-Tx: period of capture before deployment of baits. Tx: period of capture during deployment of baits. Black dots: outliers.

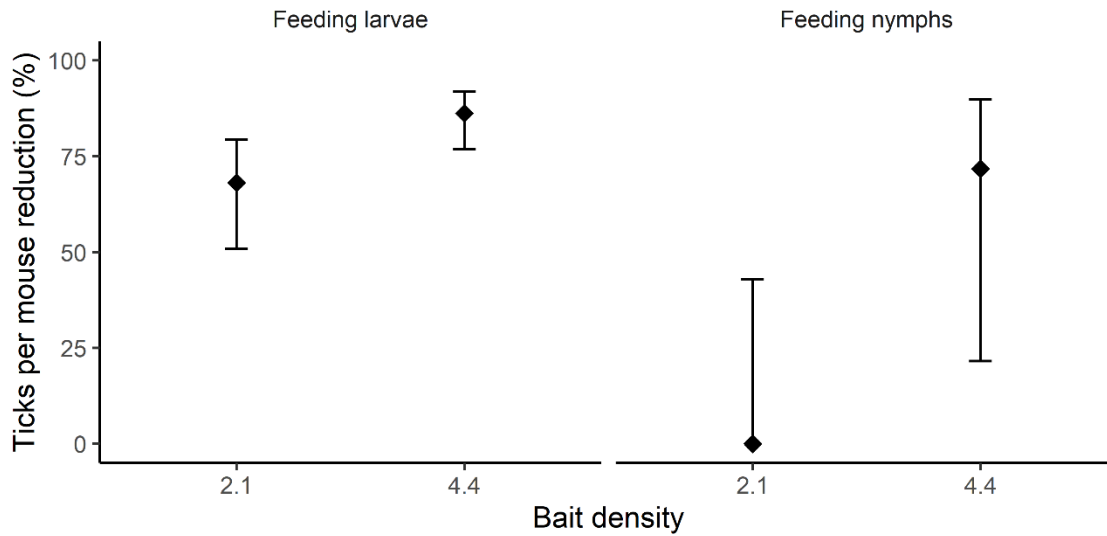


Figure 7. Percent reduction of larvae and nymphs infesting *Peromyscus* mice (± 1 CI95). The variable *bait density* (per 1000m²) is the predictor of the effect of the treatment. Coefficients of the models were used to calculate the proportion of reduction of ticks on mice. In model 1a (FL), coefficients were adjusted for mouse *age* and *sex*, and for *season*, *year* and *zone* of capture. In model 2a (FN), they were adjusted for the mouse *sex*, *season* and *zone* of capture.

Tables

Table 14. Total number of captured small mammals, and abundance of larvae and nymphs infesting four groups of small mammals

Common name	Taxonomic groups	No. of animals (%)	No. of larvae (% of total)	Average larvae number (range) ^A	No. of nymphs (% of total)	Average nymphs number (range) ^A
White-footed mouse / deer mouse	<i>Peromyscus</i> spp.	312 (92)	2659 (> 99)	8.5 (0 - 64)	344 (> 99)	1.1 (0 - 24)
Red-backed vole	<i>Myodes gapperi</i>	25 (7)	12 (< 1)	0.5 (0 - 5)	3 (< 1)	0.1 (0 - 1)
Woodland jumping mouse	<i>Napaeozapus insignis</i>	2 (< 1)	10 (< 1)	5.0 (0 - 10)	0	0.0
Northern short-tailed shrew	<i>Blarina brevicauda.</i>	1 (< 1)	1 (< 1)	1.0	0	0.0
	Total	340	2682	7.9 (0 - 64)	347	1.0 (0 - 24)

^AThe total number of feeding larvae (FL) or nymphs (FN) divided by the number of animals contributing to the count

Table 15. Descriptive data of *I. scapularis* tick infestation of *Peromyscus* mice, aggregated by zone and density of baits

Year	Zone	Bait density ^A	Mice ^B	Males/n ^C (%)	Adults/n ^C (%)	No of larvae ^D	Average larva number (range) ^E	QL ^F	No of nymphs ^D	Average nymph number (range) ^E	QN ^F
2016	C	0	19	15/19 (79)	5/18 (28)	74	3.9 (0 - 7)	5.0	16	0.8 (0 - 4)	4.8
	T1	2.1	18	7/18 (39)	14/18 (78)	45	2.5 (0 - 10)	9.8	13	0.7 (0 - 2)	6.3
2017	C	0	48	24/48 (50)	29/42 (69)	544	11.3 (1 - 55)	42.8	86	1.6 (0 - 17)	5.7
	T1	0	28	18/28 (64)	19/28 (68)	497	17.8 (1 - 55)	24.5	79	2.8 (0 - 24)	8.3
		4.4	23	16/23 (70)	9/15 (60)	96	4.2 (0 - 20)	43.7	4	0.2 (0 - 1)	5.0
		2.1	16	9/14 (64)	7/9 (78)	284	17.8 (0 - 64)	63.5	17	1.1 (0 - 6)	6.0
	T2	0	13	7/12 (58)	8/12 (67)	172	13.2 (3 - 55)	27.3	24	1.8 (0 - 10)	12.9
2018	C	0	47	26/47 (55)	41/47 (87)	381	8.1 (0 - 50)	28.9	30	0.6 (0 - 5)	2.4
		4.4	24	13/24 (54)	16/24 (67)	60	2.5 (0 - 13)	112.8	2	0.1 (0 - 1)	1.8
	T1	0	28	12/28 (43)	17/26 (65)	185	6.6 (0 - 18)	12.2	29	1.0 (0 - 5)	4.0
		2.1	25	13/25 (52)	20/25 (80)	87	3.2 (0 - 23)	261.8	4	0.2 (0 - 1)	2.6
	T2	0	23	12/23 (52)	20/23 (87)	234	10.2 (1 - 27)	22.2	40	1.7 (0 - 8)	2.9
		2.1	25	13/25 (52)	20/25 (80)	87	3.2 (0 - 23)	261.8	4	0.2 (0 - 1)	2.6
Total			312	172/309 (62)	205/287 (71)	2659	8.5 (0 - 64)	52.6	344	1.1 (0 - 24)	4.9

^ADensity of baits by 1000 m².

^BNumber of individual mice captured.

^CNumber of animals for which the value of the variables is known

^DTotal number of feeding larvae (FL) or nymphs (FN) infesting *Peromyscus* mice.

^EThe total number of feeding larvae (FL) or nymphs (FN) divided by the number of mice captured.

^FThe mean density by 100 m² of host-seeking larvae (QL) or nymph (QN).

Table 16. Negative binomial regression model of the number of feeding larvae per mouse (model 1a)

Variables (references)	Categories	β (SE)^A	<i>P</i> value	CI95^B
Bait density (0)	2.1	-1.14 (0.22)	< 0.001	-1.57; -0.71
	4.4	-1.98 (0.27)	< 0.001	-2.50; -1.46
Season (June and July)	August	0.73 (0.16)	< 0.001	0.42; 1.04
Year (2016)	2017	1.21 (0.20)	< 0.001	0.82; 1.61
	2018	0.54 (0.20)	0.007	0.14; 0.93
Zones (C)	T1	0.52 (0.15)	< 0.001	0.24; 0.81
	T2	0.62 (0.16)	< 0.001	0.30; 0.94
Sex (Female)	Male	0.59 (0.12)	< 0.001	0.36; 0.82
Age (Adults)	Juvenile	0.79 (0.20)	< 0.001	0.39; 1.19
	Subadult	0.18 (0.21)	0.395	-0.23; 0.60
Sex*Age (Female*Adult)	Male*Juvenile	-1.06 (0.33)	0.001	-1.70; -0.42
	Male*Subadult	-0.23 (0.26)	0.356	-0.74; 0.27

^AEstimate regression coefficients with standard error.

^B95% confidence interval of estimate regression coefficients.

Table 17. Negative binomial regression model of the number of feeding nymphs per mouse (model 2a)

Variables (references)	Categories	β (SE)^A	<i>P</i> value	CI95^B
Bait density (0)	2.1	0.09 (0.33)	0.794	-0.56; 0.73
	4.4	-1.26 (0.52)	0.015	-2.28; -0.24
Season (June and July)	August	-1.51 (0.29)	< 0.001	-2.08; -0.93
Year (2016)	2017	-0.22 (0.35)	0.521	-0.90; 0.46
	2018	-1.06 (0.36)	0.003	-1.76; -0.36
Sex (Female)	Male	0.51 (0.19)	0.007	0.14; 0.88

^AEstimate regression coefficients with standard error.

^B95% confidence interval of estimate regression coefficients.

Chapitre 3 - The effect of fluralaner treatment of small mammals on the endemic cycle of *Borrelia burgdorferi* in a natural environment²⁸

Jérôme Pelletier^{1 2 3}, Catherine Bouchard^{2,4}, Cecile Aenishaenslin^{1 2 3}, Gabrielle Dimitri Masson^{1 2}, Christopher Fernandez-Prada^{1 5}, Simon Gagnon^{1 5}, Ana Victoria Ibarra-Meneses^{1 5}, Antonia Dibernardo⁶, L. Robbin Lindsay⁶, Nicholas H. Ogden⁷, Jean-Philippe Rocheleau^{2 7} and Patrick Leighton^{1 2 3}

¹Département de pathologie et microbiologie, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada.

²Groupe de recherche en épidémiologie des zoonoses et santé publique, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada.

³Centre de recherche en santé publique de l'Université de Montréal et du CIUSSS du Centre-Sud-de-l'Île-de-Montréal, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada.

⁴ Public Health Risk Science Division, National microbiology laboratory, Public Health Agency of Canada, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada.

⁵Groupe de recherche sur les maladies infectieuses en production animale, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada.

⁶One Health division, National microbiology laboratory, Public Health Agency of Canada, Winnipeg, Manitoba, Canada.

⁷Département de santé animale, Cégep de Saint-Hyacinthe, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada.

²⁸ Article soumis à *Journal of medical entomology*

Abstract

Among approaches aimed at reducing Lyme disease risk in the environment, those targeting reservoirs of *Borrelia burgdorferi* are promising because they have the potential to reduce both the density of questing *Ixodes scapularis* Say ticks and the prevalence of *B. burgdorferi* in the tick population. In this 4-year field study, we treated a population of wild small mammals with two densities of fluralaner baits and investigated the effect of treatment on three parameters of the endemic cycle of *B. burgdorferi*: i- the prevalence of infected *Peromyscus* mice (PIM), ii- the density of questing nymphs (DON) and iii- the prevalence of infected nymphs (NIP). First, we demonstrated that fluralaner baiting is effective at reducing infestation of *Peromyscus* mice, the main reservoir of *B. burgdorferi* in central and northeastern North America, in the laboratory and the field. Results from the field study showed a significant decrease in *B. burgdorferi* infection in mice (Odds ratio: 0.37 [CI95: 0.17 - 0.83]). A reduction in the DON between 45.4% [CI95: 22.4 - 61.6%] and 62.7% [45.9 - 74.2%] occurred in treated area when compared with control areas. No significant effect was reported on the NIP. These results confirmed the hypothesis that fluralaner baits have an effect on *B. burgdorferi* endemic cycle, with the potential to reduce the density of *B. burgdorferi* infected ticks in the environment. Further studies performed in various habitats and public health intervention contexts are needed to refine and operationalize this approach for reducing Lyme disease risk in the environment.

Keywords: *Borrelia burgdorferi*, Lyme disease, *Ixodes scapularis*, *Peromyscus* mice, fluralaner

Introduction

Lyme disease (LD) is a tick-borne disease (TBD) of major concern for public health in temperate area of the northern hemisphere (Piesman and Gern 2004). In addition to being the most frequent TBD in Europe and North America, LD is currently expanding northward in Canada and northern European countries bringing risk to new animal and human populations (Leighton et al. 2012, Ogden et al. 2013, Bouchard et al. 2015, Bouchard et al. 2019, Vandekerckhove et al. 2019). In Canada, the emergence of the causal agent of LD, *Borrelia burgdorferi sensu stricto* (hereafter *B. burgdorferi*), is linked with the northward geographic expansion of its vector, the tick *Ixodes scapularis*, endemic area due to climate and ecological changes (Leighton et al. 2012, Ogden et al. 2013). A key driver of this progression is climate warming, resulting in a more suitable environment for *I. scapularis* ticks for a longer period of the year (Ogden et al. 2005, Leighton et al. 2012). Warmer temperature and more days per year with temperature > 0°C favour activity and reproduction of *I. scapularis* ticks, allowing them to complete their life cycle faster and establish endemic populations (Ogden et al. 2004, Ogden and Lindsay 2016). The growing threat and increasing public health burden of LD and other emerging tick-borne diseases create a strong need for innovative approaches to reduce tick-borne disease risk in the environment.

An important driver of *B. burgdorferi* endemic cycle in the environment is the frequency with which immature stages of *I. scapularis* feed on infected small mammals (Bouchard et al. 2019). Because ticks do not transmit *B. burgdorferi* transovarially from the female adults to its offspring, larvae must feed upon an infected host to become infected themselves (Patrican 1997, Piesman and Gern 2004, Tsao 2009). In central and eastern North America, *Peromyscus*

mice, namely the white-footed mouse, *P. leucopus*, and the deer mouse, *P. maniculatus*, are major reservoirs for *B. burgdorferi* (Donahue et al. 1987, Mather et al. 1989, Rand et al. 1993, Dumas et al. 2022). For instance, they can infect between 80 and 90% of immature *I. scapularis* feeding on them, they usually feed an important proportion of immature *I. scapularis* questing in the environment and they can become permanent carrier at least for some *B. burgdorferi* strains (Mather et al. 1989, Rand et al. 1993, Lindsay et al. 1997, Hanincová et al. 2008, Dumas et al. 2022). Other vertebrates, such as shrews, chipmunks and some species of birds, act as reservoir for *B. burgdorferi* but they usually infect a smaller proportion of ticks feeding on them, are less abundant in the environment or host a smaller fraction of immature *I. scapularis* ticks (Mather et al. 1989, LoGiudice et al. 2003, Brunner et al. 2008, Dumas et al. 2022).

This makes *Peromyscus* mice strategic species for approaches targeting reservoirs of *B. burgdorferi* in order to disrupt its endemic cycle and reduce the density of infected ticks (DIT). Two categories of approaches have been used to reduce the DIT by targeting reservoirs of *B. burgdorferi* (Eisen and Dolan 2016). First, approaches have targeted small mammal populations with vaccines against Outer surface protein A (OspA) (Tsao et al. 2001, Gomes-Solecki 2014). These approaches have been shown to reduce the prevalence of *B. burgdorferi*-infected ticks in the environment (Tsao et al. 2004, Richer et al. 2014). For example, in two controlled trials performed in southern Connecticut between 1998 and 2002, Tsao et al. (2004) subcutaneously administered a recombinant anti-OspA vaccine to *Peromyscus* mice. The authors reported a 19% and 25% reduction in the odds of *B. burgdorferi* infection in nymphs between control areas and areas where mice were vaccinated. (Tsao et al. 2004). In a 4-year trial that took place in the

state of New York between 2007 and 2011, Richer et al. (2014) deployed baits containing an anti-OspA vaccine intended for consumption by local small mammals. The prevalence of infected nymphs declined by 23% where small mammals were exposed to the vaccine while it increased by 23% in control areas (Richer et al. 2014).

Other approaches have targeted small mammals with acaricides or acaropathogen fungi such as permethrin, fipronil or Met52 (Hornbostel et al. 2005, Eisen and Dolan 2016). In contrast to methods using vaccines, killing ticks infesting reservoir hosts has the potential to affect other tick-borne pathogens transmitted by small mammals such as *Anaplasma phagocytophilum* or *Babesia microtii* (Eisen and Dolan 2016, Eisen 2023). In addition, small mammals feed an important proportion of host-seeking *I. scapularis* ticks; therefore, these approaches have the potential additional effect of reducing the density of questing ticks (Mather et al. 1989, Dumas et al. 2022). For instance, the field trials reported by Deblinger & Rimmer (1991) and Dolan et al. (2004) showed promising results of acaricidal treatment of reservoir hosts for reducing the DIT. In the first trial, permethrin was topically administrated using stations containing treated cotton balls and a reduction in the abundance of host-seeking *I. scapularis* ticks was observed (Deblinger and Rimmer 1991). The second study administrated fipronil topically and showed a reduction in the abundance of nymphal and adult *I. scapularis* ticks with a reduction in the prevalence of infected nymphs (Dolan et al. 2004).

Killing ticks infesting small mammals has the potential to affect the endemic cycle of *B. burgdorferi* through three mechanisms. First, killing nymphs infesting small mammals may reduce the transmission of *B. burgdorferi* between vectors and reservoirs, and result in a lower *B. burgdorferi* prevalence among small mammals. Second, killing larvae and nymphs may reduce

the prevalence of *B. burgdorferi*-infected ticks, as an important fraction of nymphs and adults are infected after biting a small mammal, especially a *Peromyscus* mouse (Mather et al. 1989, Dumas et al. 2022). Conversely, untreated nymphs and adults would likely have bitten non-reservoir or less competent reservoir species at their previous stage resulting in a lower *B. burgdorferi* prevalence. Third, as small mammals usually feed an important fraction of *I. scapularis* larvae and nymphs, killing immature ticks that feed on them may subsequently result in a reduction in the density of nymphs and adults in the environment.

Fluralaner is an acaricide of the isoxazolines family recently commercialized for tick bites prevention in animals (Zhou et al. 2021). As with permethrin and fipronil, fluralaner baits were effective at killing *I. scapularis* ticks infesting small mammals in laboratory (Pelletier et al. 2020) and/or field trials (Pelletier et al. 2022). In the laboratory, fluralaner killed more than 90% of infesting *I. scapularis* larvae on *P. maniculatus* mice in 48h with doses of 12.5 and 50 mg/kg, even though this effect was limited to the first 4 days following administration of the treatment (Pelletier et al. 2020). These results contrast with fluralaner duration of effect reported in domestic animal such as dogs, in which fluralaner can kill > 90% of infesting *I. ricinus* Linnaeus adults for up to 3 months (Wengenmayer et al. 2014). In a previous field trial, fluralaner successfully reduced the counts of larval and nymphal *I. scapularis* infesting *Peromyscus* mice by up to 86% depending on treatment intensity and tick stage (Pelletier et al. 2022).

This non-randomized controlled study aimed to determine if the reduction in the number of *I. scapularis* larvae and nymphs infesting *Peromyscus* spp. mice previously observed by Pelletier et al. (2022) had an effect on the endemic cycle of *B. burgdorferi*. Consequently, based on the field work described in Pelletier et al. (2022), the effect of fluralaner baiting of small mammals was

assessed through three critical parameters of the *B. burgdorferi* endemic cycle after a 4-year deployment: i- the prevalence of *B. burgdorferi*-infected *Peromyscus* mice (PIM), ii- the density of questing nymphs (DON) and iii- the prevalence of *B. burgdorferi*-infected nymphs (NIP).

Materials and methods

Field activities

Experimental area. The study took place between 2016 and 2019 on the Farnham National Defense Facility located in southern Québec, Canada, close to the border with USA. This study was performed in the same experimental area and plots described by Pelletier et al (2022). The environment of the experimental area was homogeneous and composed of maple and oak forests with a thick leaf litter. Briefly, the experimental area was divided in three zones (C, T1 and T2) designed to limit mixing between the small mammal populations. Four plots were located within zones C and T1, three within zone T2 (Pelletier et al. 2022). Experimental plots were 75 x 75m in area and separated by at least 100 m in respect of *Peromyscus* mice average home range to limit the movement of small mammals between sites (Wolff 1985).

Treatment. Fluralaner baits were distributed in the field through mouse-size Protecta RTU stations (Bell Laboratories Inc., Murray Hill, NJ, USA), with one bait per station. Fluralaner baits were a mixture of peanut butter and the commercial formulation Bravecto™ (Merck Animal Health, Madison, NJ) with a final concentration of 4.8 mg of fluralaner per g of bait (Pelletier et al. 2022). In treatment zone T1, bait stations were deployed within experimental plots at a density of 2.1 baits/1000m² (n = 12 stations per 5,625m² plot) in 2016 but increased to 4.4 (n = 25) between 2017 and 2019. New experimental plots located in treatment zone T2 were added

to the study in 2017 at a density of 2.1 baits/1000m² and this bait density was maintained until 2019 (Pelletier et al. 2022). Stations were filled with a 250-500 mg of bait containing 1.2-2.4 mg of fluralaner, enough to provide a dose of 50-100 mg/kg to a 25g *Peromyscus* mice that would eat the entire bait (Pelletier et al. 2022). The treatment was deployed over a 6-week period each year from July 10-15th to August 23-26th, spanning the peak in larval *I. scapularis* questing activity, with bait stations refilled each week (Pelletier et al. 2022). From 2017 to 2019, 2,176 baits each made up of 250-500 mg of bait mixture containing 1.2-2.4 mg of fluralaner were administered in zones T1 and T2. No bait or stations were deployed in zone C.

Small mammal sampling. Small mammals sampling was performed as described by Pelletier et al. (2022). Mammals were captured with Sherman live-traps (H.B. Sherman Traps, Tallahassee, FL) in 2016, 2017 and 2018 both before (Pre-Tx) and during (Tx) treatment application. Mice were weighted to extrapolate age, sexed and an ear biopsy was taken on each first capture mouse for *B. burgdorferi* testing (Pelletier et al. 2022). Mouse handling was done under general anesthesia as described by Pelletier et al. (2022) and was performed in accordance with the Canadian Council for Animal Care and the Ministère des forêts, de la faune et des parcs (SEG: 2016SF2052R16, 2017-05-11-2232-16-SF and 2018-3-22-2369-16-S-F) guidelines and regulation. The handling protocol was approved by the institutional animal ethics committee of Université de Montréal (16-Rech-1845, 17-Rech-1836 and 18-Rech-1836).

Tick sampling. Host-seeking ticks in experimental plots were sampled between 2016 and 2019 by dragging a 1-m² piece of white flannel cloth across the forest floor (Rulison et al. 2013). In 2016, each zone was sampled twice (once in June and once in July). Starting in 2017, two additional sampling periods were added (May and August) for a total of four sampling periods at

monthly intervals throughout the summer. Between 2016 and 2017, two 75m² transects were sampled per plot in each period for a surface of 150m² per plot-period. In 2018 and 2019, three transects of 75m² were added to each plot to bring the sampled surface to 375m² per plot-period. After each 25m² of dragging, host-seeking ticks were collected for identification and pathogen testing. During a typical sampling day, the effort was divided equally among the plots to control for the effect of environmental factors such as temperature and relative humidity on the DON.

Sample testing

Ixodes scapularis nymphs and *Peromyscus* mouse ear biopsies were stored in 70% ethanol at room temperature until DNA extraction. All tested nymphs were first identified with a taxonomic key (Lindquist et al. 2016). Due to limited resources, a subsample of nymphs collected in 2017, 2018 and 2019 were randomly selected when the number of nymphs sampled was > 30 on a specific plot during a sampling period. If the number of nymphs collected was ≤ 30, all ticks were tested. DNA was extracted with DNeasy 96 tissue kits (Qiagen, Hilden, Germany) or DNeasy Blood & Tissue kit (Qiagen) according to the manufacturer's protocol. Samples were screened for *B. burgdorferi* using a multiplex real time PCR following two different protocols. The first protocol was performed at the National Microbiology Laboratory (NLM, Winnipeg, MA, Canada). First, samples were screen for *Borrelia* spp. with mRNA-23S gene in a duplex real-time quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR) as Tokarz et al. (2017) and then, *B. burgdorferi* were discriminated from *B. miyamotoi* with a duplex assay with OspA gene as described in Courtney et al. (2004). Our research team developed a second protocol allowing us to perform tick testing locally due to limited laboratory capacity for tick testing at the NLM

during COVID-19 pandemic. The complete description of this protocol and the PCR conditions are reported in [Annexe 2 - Extraction of DNA and amplification of the rRNA-23S and OspA genes](#). Briefly, samples were screened for *Borrelia* spp. with primers amplifying the 23s-rRNA gene as Courtney et al. (2004), and, if positives, subsequently tested for *B. burgdorferi* with primers amplifying the OspA gene as Tokarz et al. (2017). Results of the first PCR reaction was confirmed by the presence of a 75 bp band by agarose gel electrophoresis. The presence of *B. burgdorferi* were confirmed with a qPCR reaction using Universal SYBR Green Supermix (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) and the CFX Opus 96 real-time PCR system (Bio-Rad Laboratories). A sample was confirmed positive when the quantification threshold was reached within 30 amplification cycles and a melting peak was detected at 76 °C.

Statistical analyses

Outcomes. The three parameters (PIM, DON and NIP) measured to assess the effect of the treatment on *B. burgdorferi* endemic cycle were used as outcome variables for statistical modelling. To test the effects of the treatment on the PIM and the NIP, generalized linear models (GLM) with a binomial error distribution and with infection status as the outcome were built (respectively Model 1 and 3). For the DON, the number of nymphs collected per 100m² was analyzed with a negative binomial GLM to account for overdispersion (Model 2).

Predictor of treatment effect. To evaluate the association between the three outcome variables and the effect of the treatment, we used the *cumulative treatment* variable. Cumulative Bait Density (CBD) represents the sum of annual bait densities administrated at a given location across all previous years. For example, plots from every zone during their first year in the study cumulated no treatment (CBD = 0.0 baits per 1000m²). But plots of treated zones T1 and T2

cumulated 2.1 baits per 1000m² during their second year in the study. The third year in the study, zone T1 plots cumulated 6.5 baits per 1000m² and plots of zone T2 4.2. In the meantime, plots of zone C cumulated no treatment. In model 1, this variable was included in the analyses as a 3-level factor (0.0, 2.1 and 6.5 baits per 1000m²) because mice were not captured during the 4 years whereas in models 2 and 3 it was included as a 5-level factor (0.0, 2.1, 4.2, 6.5 and 10.9).

Covariates. To adjust the effect of the treatment for potential confounding factors, covariates were included in each model. In model 1, the calendar *year* (2016, 2017 or 2018), *period* (Pre-Tx or Tx), the *zone* of capture (C, T1 or T2), mouse *age* (subadult or adult) and *sex* (male or female) were tested as covariates. Mice were attributed to an age category based on weight: <17 g = subadult (aggregated category of juvenile or subadult) and ≥17 g = adult (Martell 1983, Linzey 1989). In model 2, the sampling *zone* (C, T1 or T2), the calendar *year* (2016, 2017, 2018 or 2019), the calendar *month* (May, June, July or August), tick *cohort* (years 2016 and 2018, and years 2017 and 2019) and the sampling *plot* were tested as potential covariates. In model 3, covariates *zone* (C, T1 or T2), *year* (2016, 2017, 2018 or 2019), *month* (May, June, July or August) and *plot* were tested. Spatial (*zone* and *plot*) and temporal (*cohort*, *year* and *period*) covariates were included to control for unmeasured and related ecological factors that may confound treatment estimates. If included, the covariates *plot* was included as a random factor. The *month* variable was included to consider the sampling period difference between years, e.g., on the first year in the study, no sampling period for ticks were performed in May and August.

Model selection and fit. The three models followed the same selection methodology. First, univariate association between covariates and the outcomes were tested using χ^2 tests. Covariate with a significant univariate association ($P < 0.2$) with the outcome were included in multivariate analyses. If significantly associated with the outcome during univariate analyses, the covariate *plot* was included in the multivariate analyses as a random intercept in mixed GLM (GLMM). At the beginning of the multivariate modelling process, the full set of variables was tested for multicollinearity with variance inflation factor (VIF). Covariates presenting a VIF 95% confidence interval (CI95) including values > 10 were excluded. The final model was then selected using manual backward stepwise selection and log-likelihood ratio χ^2 test (LRT; $P < 0.05$). Model fit was evaluated with response and Pearson residual plots. Response residual uniformity and homoscedasticity were tested with Kolmogorov-Smirnov and quantile regression tests, respectively ($P > 0.05$). Goodness of fit of each model was evaluated with Pearson residual deviance χ^2 tests ($P > 0.05$). Residual spatial dependency was tested on the response residuals using Moran's I test ($P > 0.05$).

Software. Statistical analyses were performed with R version 4.1.1 using packages *DHARMA*, *emmeans*, *ggplot2*, *glmmTMB*, *lme4* and *performance* (Wickham 2009, Bates et al. 2015, Brooks et al. 2017, Hartig 2020, Lüdecke et al. 2021, R core Team 2021).

Results

Prevalence of infected mice (Model 1). A total of 282 mice were captured with ear biopsies tested for the presence of *B. burgdorferi*. The PIM over all the study was 51.8%. During the study period, the prevalence increased by 35.5% in zone C while it decreased by 17.0% in zone T1 (Table 18). Between 2017 and 2018, prevalence increased in zone T2 by 14.1% while it

increased by 18.9% in zone C (Table 18). Concurrently, in zone T1, treated at the highest bait density, the PIM decreased by 1.4% (Table 18). The prevalence of *B. burgdorferi* infection in mice was higher during the capture period before application of the treatment in all zones (Table 18). The observed prevalence decreased from 61.8% when mice were not exposed to treatment to 47.2% when they were exposed to a CBD of 2.1 baits/1000m² and 38.6% for a CBD of 6.5 baits/1000m².

Among the potential covariates, the variables *period*, *zone* and *age* had significant univariate associations with mouse odds of being infected by *B. burgdorferi* ([Annexe 3 - Supplementary Table 4](#)). No covariate showed high multicollinearity ([Annexe 3 - Supplementary Table 4](#)). During multivariate analyses, the variable *zone* (LRT, 2.17, *P* = 0.338) and *period* (LRT, 3.13, *P* = 0.077) were sequentially excluded from the final model. Mice exposed to a cumulative density of 6.5 baits/1000m² had significantly lower odds (OR: 0.37 [0.17 - 0.83]) of being infected compared with untreated mice (Table 19). In contrast, mice exposed to a CBD of 2.1 baits/1000m² showed no significant effect of treatment (Table 19). The adjusted mouse infection prevalence predicted by the final model decreased from 60.3% [CI95: 51.4 - 69.2%] with no treatment to 52.5% [CI95: 41.6 - 63.4%] at a CBD value of 2.1 baits/1000m² and to 37.2% [CI95: 23.4 - 51.0%] at the value of 6.5 baits/1000m² (Figure 8).

Density of questing nymphs (Model 2). A density of 4.79 nymphs per 100m² were collected during the study (Table 20). The zone C, T1 and T2 had density of 3.44, 5.60 and 5.64 nymphs/100m² over the study period, respectively. The cohort of ticks that were questing as nymphs was more abundant during years 2017 and 2019 (4.73 nymphs/100m²) than during years 2016 and 2018 (3.66 nymphs/100m²). Observed DON decreased from 11.8 and 11.7

nymphs/100m² to 7.5 and 3.2 in zones T1 and T2 after being exposed to a bait density of 2.1 during their first year in the study, respectively (Table 20). The density remained low in both zones after this first reduction. In contrast, the DON reduced by only 0.67 nymphs/100m² in zone C after its first year in the study (Table 20).

No potential covariates were excluded during univariate analysis, but the variable *year* was excluded at the beginning of the multivariate analysis due to high risk of multicollinearity ([Annexe 3 - Supplementary Table 5](#)). No variables were excluded during the backward selection. Cumulative treatment density was significantly associated with a DON reduction (Table 21). After the first year of treatment and the deployment of a bait density of 2.1/1000m², the adjusted DON (nymphs/100m²) decreased from 13.0 [CI95: 8.3 - 17.6] to 7.0 [CI95: 4.8 - 19.3] in plots of zone T1 and from 13.1 [CI95: 8.5 - 17.7] to 3.7 [CI95: 2.5 - 4.8] in zone T2 (Figure 9a & b). After this reduction, the DON in treated zones remain low compared to the first year, notwithstanding the increase in CBD (Figure 9a & b). The treatment, when compared to areas that received no treatment, was associated with a reduction of the DON (DON-R) between 45.4% [CI95: 22.4 - 61.6%] with a CBD of 4.2/1000m² and 62.7% [45.9 - 74.2%] with a CBD of 6.5/1000m² (Figure 9c). To explore whether the effect of the treatment increase as a function of the CBD, each treatment category was compared with its previous category using a Tukey adjusted post-hoc test. Only the CBD of 2.1 showed a significant DON-R (46.3% [CI95: 28.2 - 59.8%]) with the previous category ($P < 0.001$). Cumulate Bait Densities of 4.2 ($P = 1.000$), 6.5 ($P = 0.515$) and 10.9 (DON-R: 57.5% [CI95: 40.5 - 69.7%]), $P = 0.944$) were not significantly different.

Prevalence of infected nymphs (Model 3). During the study, the NIP was at 31.4% with the lowest prevalence (16.0%) in 2016, and the highest (36.0%) in 2019 (Table 20). The prevalence increased in zone C and T1 between 2016 and 2017 but remain stable in all zones between 2017 and 2019 (Table 20). Overall, during the study period, prevalence in zones C, T1 and T2, was 29.4%, 29.5% and 32.1%, respectively (Table 20). The variable zone was excluded during univariate analyses ([Annexe 3 - Supplementary Table 6](#)). No covariates showed high multicollinearity or were exclude during backward selection ([Annexe 3 - Supplementary Table 6](#)). The treatment showed no effect on NIP (Figure 10; Table 22).

Discussion

In this study, we aimed to evaluate the effects of fluralaner treatment of small mammals on three parameters of the *B. burgdorferi* endemic cycle: 1- PIM, 2- DON and 3- NIP. The treatment resulted in a significant reduction in mouse infection by *B. burgdorferi* after the application of 2.1 baits/1000m² during the first year followed by the deployment of 4.4 baits/1000m² the second year. The single application of the treatment at a bait density of 2.1/1000m² resulted in a reduction of 46% in the DON the following year. In the following years, the treatment reduced the DON by 45 to 68% but there was no significant effect due to cumulating more treatment.

The results also showed that the treatment was not associated with a reduction in the NIP. In the current literature, Mather et al. (1988) and Dolan et al. (2004) showed a reduction of the pathogen presence in ticks using an acaricide alone on small mammal populations. Dolan et al. (2004) administrated topical fipronil to small mammals during 3 years in a residential community in southeastern Connecticut. The treatment was associated with a 45 to 96% reduction in *I. scapularis* larvae and nymphs feeding on *P. leucopus*, and a significant reduction

of 16% in the NIP (Dolan et al. 2004). Mather et al. (1988) treated small mammals with permethrin, reducing infestation of *P. leucopus* mice by 97% in treated area and it resulted in a NIP reduction of 22%. On our experimental area, we previously showed that fluralaner baiting reduce infestation of *Peromyscus* spp. mice by 68 and 86% for larvae at 2.1 and 4.4 baits per 1000m², respectively; and by 72% for nymphs at the highest bait density (Pelletier et al. 2022). Those results are similar to those of Dolan et al. (2004) yet did not result in a reduction in the NIP.

Infection of ticks by *B. burgdorferi* is mainly driven by the host community composition. It is plausible that transmission of *B. burgdorferi* to *I. scapularis* ticks varies between habitats or even between specific sites. While Dumas et al. (2022) and Mather et al. (1989) showed that most nymphs at their study sites get infected after feeding on *Peromyscus* mice, other studies highlighted the potential role of eastern chipmunks or shrews in the endemic cycle of *B. burgdorferi* (Telford et al. 1990, Slajchert et al. 1997, Brisson et al. 2008). Dumas et al. (2022) also illustrated the contribution of birds to the endemic cycle of *B. burgdorferi* even if this contribution is smaller than the one of *Peromyscus* mice. Up to 20% of infected nymphs were the result of feeding on a species of birds (Dumas et al. 2022). An absence of reduction in the NIP may be explained by a significant contribution of other competent reservoirs to the transmission of *B. burgdorferi*. As we do not know how the treatment is distributed among small mammal populations, a failure to effectively treat *Peromyscus* mice responsible for the infection of an important fraction of the remaining nymphs is another major hypothesis that could explain a lack of effect on nymph infection.

The distribution of *I. scapularis* larvae within the host population when the present study took place may explain the significant effect of the treatment on the DON. On this experimental site, the killing of 68 to 86% of larvae infesting *Peromyscus* mice (Pelletier et al. 2022) resulted in a significant reduction of questing nymphs in the following years. In this regard, it is plausible that *Peromyscus* mice feed an important fraction of *I. scapularis* larvae in the experimental plots during this study as shown by studies of Dumas et al (2022) and Mather et al (1989). The significant reduction in the DON is similar to the observations made by Deblinger and Rimmer (1991), Schulze et al. (2017), Jordan and Schulze (2019), Mandli et al. (2021) and Keesing et al. (2022). Keesing et al. (2022) deployed a topical fipronil treatment targeting small mammals and showed that the occurrence of questing nymphs was 50% lower on treated household. Nevertheless, the reduction in DON observed in the present study is lower than the one observed in previous studies (Deblinger and Rimmer 1991, Schulze et al. 2017, Jordan and Schulze 2019). For example, Jordan and Schulze (2019) deployed a topical permethrin treatment that resulted in a reduction of 79 to 84% in questing nymphs. This difference may be caused by different distributions of *I. scapularis* larvae on the host community between experimental sites. The distribution of the treatment within the mouse population, e.g., the proportion of mice that consumed the treatment and received sufficiently high doses of acaricide, could also explain differences between studies. However, results from studies in this field remain difficult to compare directly due to differences in data processing, in experimental design, in treatment application approach and in drugs' mechanisms of action.

An effect of an acaricidal treatment alone on *Peromyscus* mouse infection by *B. burgdorferi* was also observed by Dolan et al. (2004). They showed that a smaller proportion of naïve young-of-

the-year mice were infected in treated vs. untreated sites (Dolan et al. 2004). The reduction of the NIP can occur through two mechanisms: i- the treatment killed nymphs infesting *Peromyscus* mice quickly enough to impair *B. burgdorferi* transmission and ii- it reduced the DON in the environment in such a way that pathogen transmission to mice was reduced. If results presented by Dolan et al. (2004) illustrate the first mechanism, the results of the current study suggest that the PIM was reduced because of the second. Firstly, our observations suggest that administration of the treatment had no effect on the PIM between capture period before treatment administration and during treatment administration, as a similar reduction occurred in all zones. Secondly, the reduction occurred after 2 years and a CBD of 6.5/1000m² in the zone T1. Our observations also suggest that a significant reduction may have occurred in zone T1 after cumulating 2.1/1000m² bait densities, but the effect observed is negated by an absence of effect in zone T2. It suggests an interaction between the environment and the effect of the treatment.

Differences in the treatment effects between studies may also be caused by factors related to study design and treatment administration protocols. In this study, we deliberately chose, as a first experimental step, to deploy the treatment at a small scale. It is highly plausible that mice or nymphs unexposed to the treatment were sampled in the area classified as treated, which contributed to mitigate the observed effect. In their study, Hinckley et al. (2021) showed no effect of a topical fipronil treatment on the DIT nor on pathogen infection rate or human-tick encounter. It was hypothesized that approaches targeting small mammals with acaricide may be sensitive to the spatial distribution and extent of the treatment, and that the deployment over broad geographic areas rather than small isolated patches may be more effective (Dolan et al.

2004, Hinckley et al. 2021). Another element of design that likely influenced the treatment effect is the intensity of treatment administration over time. In this study, the treatment was administered between mid July and the end of August. It is plausible that this timing was sufficient to kill an important fraction of feeding larvae, the future questing nymphs, but insufficient to prevent infection of mice by nymphs as shown by Dolan et al. (2004). Several other factors may obscure measurement of treatment efficacy and limit repeatability of experimental testing of approaches targeting the DIT. *B. burgdorferi* is maintained in the environment by a complex endemic cycle influenced by weather, population dynamics of its reservoirs and its vectors.

The fact that mouse biopsies and nymphs were not tested by the same analysis protocol is a limitation of this study as it may have mitigated the observed effect of the treatment. Overall, using two protocols may have caused a differential classification bias. Seventy eight out of 123 mouse biopsies classify with a CBD of 0.0 were tested with the NLM protocol, no biopsies classify with a CBD of 2.1 and all biopsies with a CBD of 6.5. We suspect that it may have lowered the gap between the CBD of 0.0 and the CBD of 2.1 and increased the gap with the CBD of 6.5 but had no significant impact on the difference between CBD of 0.0 and 6.5. The fact that all nymphs tested in 2016 were tested by a different protocol may explain partly the gap in the NIP between 2016 and 2017-2019. On the 750 nymphs classify with a CBD of 0.0, 213 were tested with the NLM protocol and only this CBD had nymphs tested with this protocol. There is little chance of any impact on the NIP results as the covariate *year*, nesting the effect of having a different protocol, was used for adjusting treatment estimates.

Several other factors may also scramble effectiveness measurement and limit repeatability of experimental testing of the approach tested in this study. For example, populations of questing nymphs are highly susceptible to weather and the density of *Peromyscus* spp. mouse populations are highly variable in nature (Ogden and Lindsay 2016, Krebs et al. 2018, Sullivan and Sullivan 2023). Measurement of treatment effect is also susceptible to the stochasticity inherent to tick collections. Accordingly, we preferred to include fewer sites in the study, but sampled them more intensively. However, this choice means that the results obtained are specific to the type of habitat present on this study experimental site.

Conclusion

This study tested the administration of an isoxazoline and the administration of an oral acaricide to reservoirs of *B. burgdorferi* and show a significant effect on the endemic cycle of the bacterium in the field. This effect was observed through a reduction in the PIM and in the DON. For example, a 45% to 63% reduction in the DON in the absence of a significant effect in the NIP would result in a 45% to 63% reduction in the DIN. While these results suggest that this approach has the potential to reduce the DIN in the environment, the primary environmental indicator of Lyme disease risk, the current study was performed at a small scale in a homogeneous environment and in an experimental setting. To validate the use of this approach to control *B. burgdorferi*-infected ticks, further studies must take place in various habitats and in public health intervention contexts to refine and operationalize the approach. Interventions aiming at reducing the DIT in the environment are intrinsically limited since they target only one component of LD risk (Eisen et al. 2012, Eisen 2021). Fluralaner baiting of small mammal should

accordingly be tested as a part of a multifaceted intervention including, for example, approaches targeting human behavior and other driver of the DIT.

Acknowledgements.

We thank Université de Montréal, Institut national de santé publique du Québec and Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada, discovery grant to P.L. (03793-2014), which funded this study. We addressed our deep gratitude to Robert Werbiski and Franck Siriex, from the Canadian Armed Forces, for their collaboration in making this study possible. We also thank all field assistants who participated in this study; this work would not have been possible without their efforts.

Author contributions.

J.P., J.-P.R., C.A., N.H.O., L.R.L., C.B. and P.A.L. participated in the study design and protocol. J.P. and G.D.M. conducted the field trial. J.P. conducted statistical analysis and wrote the manuscript. C.F.-P., A.V.I.-M. and S.G. designed the PCR protocol and did the testing. A.D. and L.R.L performed samples testing. All authors revised the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Data availability. Data are available on reasonable request.

Conflict of interest. None to declare.

References

Bates, D., M. Maechler, B. Bolker, and S. Walker. 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *J Stat Softw* 67: 1-48.

- Bouchard, C., G. Beauchamp, P. a. Leighton, R. Lindsay, D. Bélanger, and N. H. Ogden. 2013. Does high biodiversity reduce the risk of Lyme disease invasion? *Parasit Vectors* 6: 195.
- Bouchard, C., A. Dibernardo, J. Koffi, H. Wood, P. A. Leighton, and L. R. Lindsay. 2019. Increased risk of tick-borne diseases with climate and environmental changes. *Can Commun Dis Rep* 45: 83-89.
- Bouchard, C., E. Leonard, J. K. Koffi, Y. Pelcat, A. Peregrine, N. Chilton, K. Rochon, T. Lysyk, L. R. Lindsay, and N. H. Ogden. 2015. The increasing risk of Lyme disease in Canada. *Can Vet J* 56: 693-699.
- Brisson, D., D. E. Dykhuizen, and R. S. Ostfeld. 2008. Conspicuous impacts of inconspicuous hosts on the Lyme disease epidemic. *Proc Biol Sci* 275: 227-235.
- Brooks, M. E., K. Kristensen, K. J. van Benthem, A. Magnusson, C. W. Berg, A. Nielsen, H. J. Skaug, M. Maechler, and B. M. Bolker. 2017. glmmTMB balances speed and flexibility among packages for zero-inflated generalized linear mixed modeling. *R J.* 9: 378 - 400.
- Brunner, J. L., K. LoGiudice, and R. S. Ostfeld. 2008. Estimating reservoir competence of *Borrelia burgdorferi* hosts: prevalence and infectivity, sensitivity, and specificity. *J Med Entomol* 45: 139-147.
- Courtney, J. W., L. M. Kostelnik, N. S. Zeidner, and R. F. Massung. 2004. Multiplex real-time PCR for detection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi*. *J Clin Microbiol* 42: 3164-3168.
- Deblinger, R. D., and D. W. Rimmer. 1991. Efficacy of a permethrin-based acaricide to reduce the abundance of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol* 28: 708-711.

- Dolan, M. C., G. O. Maupin, B. S. Schneider, C. Denatale, N. Hamon, C. Cole, N. S. Zeidner, and K. C. Stafford, 3rd. 2004. Control of immature *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) on rodent reservoirs of *Borrelia burgdorferi* in a residential community of southeastern Connecticut. *J Med Entomol* 41: 1043-1054.
- Donahue, J. G., J. Piesman, and A. Spielman. 1987. Reservoir competence of white-footed mice for Lyme disease spirochetes. *Am J Trop Med Hyg* 36: 92-96.
- Dumas, A., C. Bouchard, A. Dibernardo, P. Drapeau, L. R. Lindsay, N. H. Ogden, and P. A. Leighton. 2022. Transmission patterns of tick-borne pathogens among birds and rodents in a forested park in southeastern Canada. *PLoS One* 17: e0266527.
- Eisen, L. 2023. Rodent-targeted approaches to reduce acarological risk of human exposure to pathogen-infected *Ixodes* ticks. *Ticks Tick Borne Dis* 14: 102119.
- Eisen, L., and M. C. Dolan. 2016. Evidence for personal protective measures to reduce human contact with blacklegged ticks and for environmentally based control methods to suppress host-seeking blacklegged ticks and reduce infection with Lyme disease spirochetes in tick vectors and rodent reservoirs. *J Med Entomol* 53(5):1063-1092.
- Gomes-Solecki, M. 2014. Blocking pathogen transmission at the source: reservoir targeted OspA-based vaccines against *Borrelia burgdorferi*. *Front Cell Infect Microbiol* 4: 136.
- Hanincová, K., N. H. Ogden, M. Diuk-Wasser, C. J. Pappas, R. Iyer, D. Fish, I. Schwartz, and K. Kurtenbach. 2008. Fitness variation of *Borrelia burgdorferi sensu stricto* strains in mice. *Appl Environ Microbiol* 74: 153-157.

Hartig, F. 2020. DHARMA: residual diagnostics for hierarchical (multi-level / mixed) regression models.

<https://cran.r-project.org/web/packages/DHARMa/vignettes/DHARMa.html>.

Hinckley, A. F., S. A. Niesobecki, N. P. Connally, S. A. Hook, B. J. Biggerstaff, K. A. Horiuchi, A. Hojgaard,

P. S. Mead, and J. I. Meek. 2021. Prevention of Lyme and other tickborne diseases using a

rodent-targeted approach: a randomized controlled trial in Connecticut. *Zoonoses Public Health*

68:578-587.

Hornbostel, V., R. S. Ostfeld, and M. A. Benjamin. 2005. Effectiveness of *Metarhizium anisopliae*

(deuteromycetes) against *Ixodes scapularis* (acari: ixodidae) engorging on *Peromyscus leucopus*.

J Vector Ecol 30:91-101.

Jordan, R. A., and T. L. Schulze. 2019. Ability of two commercially available host-targeted technologies

to reduce abundance of *Ixodes scapularis* (acari: ixodidae) in a residential landscape. *J Med*

Entomol 56: 1095-1101.

Keesing, F., S. Mowry, W. Bremer, S. Duerr, A. Evans, I. Fischhoff, A. Hinckley, S. Hook, F. Keating, J.

Pendleton, A. Pfister, M. Teator, and R. Ostfeld. 2022. Effects of tick-control interventions on

tick abundance, human encounters with ticks, and incidence of tickborne diseases in residential

neighborhoods, New York, USA. *Emerg Infect Dis* 28: 957.

Krebs, C. J., R. Boonstra, A. J. Kenney, and B. S. Gilbert. 2018. Hares and small rodent cycles: a 45-year

perspective on predator-prey dynamics in the Yukon boreal forest. *Aust Zool.* 39: 724-732.

Lane, R. S., L. E. Casher, C. A. Peavey, and J. Piesman. 1998. A better tick-control trap: modified bait

tube controls disease-carrying ticks and fleas. *Hilgardia* 52: 43-47.

- Leighton, P. A., J. K. Koffi, Y. Pelcat, L. R. Lindsay, and N. H. Ogden. 2012. Predicting the speed of tick invasion: an empirical model of range expansion for the Lyme disease vector *Ixodes scapularis* in Canada. *J Appl Ecol* 49: 457-464.
- Lindquist, E. E., T. D. Galloway, H. Artsob, L. R. Lindsay, M. Dredot, H. Wood, and R. G. Robbins. 2016. A handbook to the ticks of Canada. Biological survey of Canada.
- Lindsay, L. R., I. K. Barker, G. A. Surgeoner, S. A. McEwen, and G. D. Campbell. 1997. Duration of *Borrelia burgdorferi* infectivity in white-footed mice for the tick vector *Ixodes scapularis* under laboratory and field conditions in Ontario. *J Wildl Dis* 33: 766-775.
- Linzey, A. V. 1989. Response of the white-footed mouse (*Peromyscus leucopus*) to the transition between disturbed and undisturbed habitats. 67: 505-512.
- 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. *Can J zool* 100: 567-571.
- LoGiudice, K., S. T. Duerr, M. J. Newhouse, K. A. Schmidt, M. E. Killilea, and R. S. Ostfeld. 2008. Impact of host community composition on Lyme disease risk. *Ecology* 89: 2841-2849.
- Lüdecke, D., M. S. Ben-Shachar, I. Patil, P. Waggoner, and D. Makowski. 2021. performance: an R package for assessment, comparison and testing of statistical models. *J Open Source Softw* 60: 3139.

- Mandli, J. T., X. Lee, G. M. Bron, and S. M. Paskewitz. 2021. Integrated tick management in south central Wisconsin: impact of invasive vegetation removal and host-targeted acaricides on the density of questing *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) nymphs. *J Med Entomol* 58: 2358-2367.
- Martell, A. M. 1983. Demography of southern red-backed voles (*Clethrionomys gapperi*) and deer mice (*Peromyscus maniculatus*) after logging in north-central Ontario. *Can J zool* 61: 958-969.
- 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.
- Ogden, N. H., and J. I. Tsao. 2009. Biodiversity and Lyme disease: dilution or amplification? *Epidemics* 1: 196-206.
- Ogden, N. H., and L. R. Lindsay. 2016. Effects of climate and climate change on vectors and vector-borne diseases: ticks are different. *Trends Parasitol* 32: 646-656.
- Ogden, N. H., L. R. Lindsay, and P. A. Leighton. 2013. Predicting the rate of invasion of the agent of Lyme disease *Borrelia burgdorferi*. *J Appl Ecol* 50: 510-518.
- Ogden, N. H., L. R. Lindsay, G. Beauchamp, D. Charron, A. Maarouf, C. J. O'Callaghan, D. Waltner-Toews, and I. K. Barker. 2004. Investigation of relationships between temperature and developmental rates of tick *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in the laboratory and field. *J Med Entomol* 41: 622-633.
- 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*. Int J Parasitol 35: 375-389.

Patrican, L. A. 1997. Absence of Lyme disease spirochetes in larval progeny of naturally infected *Ixodes scapularis* (Acari:Ixodidae) fed on dogs. J Med Entomol 34: 52-55.

Pelletier, J., J. P. Rocheleau, C. Aenishaenslin, G. Dimitri Masson, L. R. Lindsay, N. H. Ogden, C.

Bouchard, and P. A. Leighton. 2022. Fluralaner baits reduce the infestation of *Peromyscus* spp. mice (Rodentia: Cricetidae) by *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) larvae and nymphs in a natural environment. J Med Entomol 59: 2080-2089.

Pelletier, J., J. P. Rocheleau, C. Aenishaenslin, F. Beaudry, G. Dimitri Masson, L. R. Lindsay, N. H. Ogden,

C. Bouchard, and P. A. Leighton. 2020. Evaluation of fluralaner as an oral acaricide to reduce tick infestation in a wild rodent reservoir of Lyme disease. Parasit Vectors 13: 73.

Piesman, J., and L. Gern. 2004. Lyme borreliosis in Europe and North America. Parasitology 129 Suppl:

S191-S220.

Poché, D. M., K. Dawson, B. Tseveenjav, and R. M. Poché. 2021. Efficacy of low-dose fipronil bait against

blacklegged tick (*Ixodes scapularis*) larvae feeding on white-footed mice (*Peromyscus leucopus*) under simulated field conditions. Parasit Vectors 14: 459.

Poché, D. M., G. Franckowiak, T. Clarke, B. Tseveenjav, L. Polyakova, and R. M. Poché. 2020. Efficacy of

a low dose fipronil bait against blacklegged tick (*Ixodes scapularis*) larvae feeding on white-footed mice (*Peromyscus leucopus*) under laboratory conditions. Parasit Vectors 13: 391.

- Rand, P. W., E. H. Lacombe, R. P. Smith, Jr., S. M. Rich, C. W. Kilpatrick, C. A. Dragoni, and D. Caporale. 1993. Competence of *Peromyscus maniculatus* (Rodentia: Cricetidae) as a reservoir host for *Borrelia burgdorferi* (Spirochaetales: Spirochaetaceae) in the wild. *J Med Entomol* 30: 614-618.
- Randolph, S. E., and A. D. Dobson. 2012. Pangloss revisited: a critique of the dilution effect and the biodiversity-buffers-disease paradigm. *Parasitology* 139: 847-863.
- Richer, L. M., D. Brisson, R. Melo, R. S. Ostfeld, N. Zeidner, and M. Gomes-Solecki. 2014. Reservoir targeted vaccine against *Borrelia burgdorferi*: a new strategy to prevent Lyme disease transmission. *J Infect Dis* 209: 1972-1980.
- Rulison, E. L., I. Kuczaj, G. Pang, G. J. Hickling, J. I. Tsao, and H. S. Ginsberg. 2013. Flagging versus dragging as sampling methods for nymphal *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *J Vector Ecol* 38: 163-167.
- Schulze, T. L., R. A. Jordan, M. Williams, and M. C. Dolan. 2017. Evaluation of the SELECT Tick Control System (TCS), a host-targeted bait box, to reduce exposure to *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in a Lyme disease endemic area of New Jersey. *J Med Entomol* 54: 1019-1024.
- 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. *J Wildl Dis* 33: 40-46.
- Sullivan, T. P., and D. S. Sullivan. 2023. Population fluctuations of the deer mouse (*Peromyscus maniculatus*) in old-field and bunchgrass-sagebrush habitats: the role of agricultural setting and optimum habitat. *Ecologies* 4: 406-425.

- Tälleklint, L., and T. G. Jaenson. 1997. Infestation of mammals by *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae) in south-central Sweden. *Exp Appl Acarol* 21:755-71
- R Core Team. 2021. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical, Vienna. <https://www.r-project.org/foundation/>
- Telford, S. R., 3rd, T. N. Mather, G. H. Adler, and A. Spielman. 1990. Short-tailed shrews as reservoirs of the agents of Lyme disease and human babesiosis. *J Parasitol* 76: 681-683.
- Tokarz, R., T. Tagliafierro, D. M. Cucura, I. Rochlin, S. Sameroff, and W. I. Lipkin. 2017. Detection of *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia microti*, *Borrelia burgdorferi*, *Borrelia miyamotoi*, and Powassan virus in ticks by a multiplex real-time reverse transcription-PCR assay. *mSphere* 2: e00151-17.
- Tsao, J., A. G. Barbour, C. J. Luke, E. Fikrig, and D. Fish. 2001. OspA immunization decreases transmission of *Borrelia burgdorferi* spirochetes from infected *Peromyscus leucopus* mice to larval *Ixodes scapularis* ticks. *Vector Borne Zoonotic Dis* 1: 65-74.
- 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.
- 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. *Proc Nat Acad Sci USA* 101: 18159-18164.
- Vandekerckhove, O., E. De Buck, and E. Van Wijngaerden. 2019. Lyme disease in Western Europe: an emerging problem? A systematic review. *Acta Clin Belg*: 1-9.

- Wengenmayer, C., H. Williams, E. Zschiesche, A. Moritz, J. Langenstein, R. K. A. Roepke, and A. R. Heckerth. 2014. The speed of kill of fluralaner (Bravecto™) against *Ixodes ricinus* ticks on dogs. *Parasit Vectors* 7: 525.
- Wickham, H. 2009. *ggplot2: elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag, New York.
- Wolff, J. O. 1985. The effects of density, food, and interspecific interference on home range size in *Peromyscus leucopus* and *Peromyscus maniculatus*. *Can J Zool* 63: 2657-2662.
- Zhou, X., A. E. Hohman, and W. H. Hsu. 2021. Current review of isoxazoline ectoparasitocides used in veterinary medicine. *J Vet Pharmacol Ther* 45: 1-15.

Figures

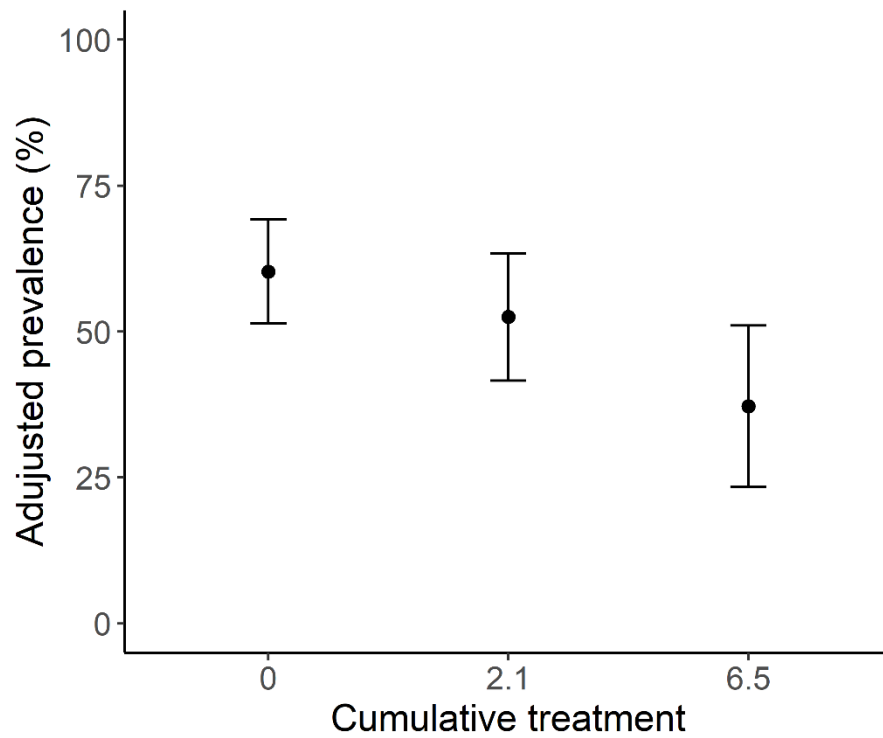


Figure 8. The effect of the cumulative treatment on mouse infection by *B. burgdorferi*. Black points are the values predicted by the final binomial GLMM and error bars represent \pm CI95.

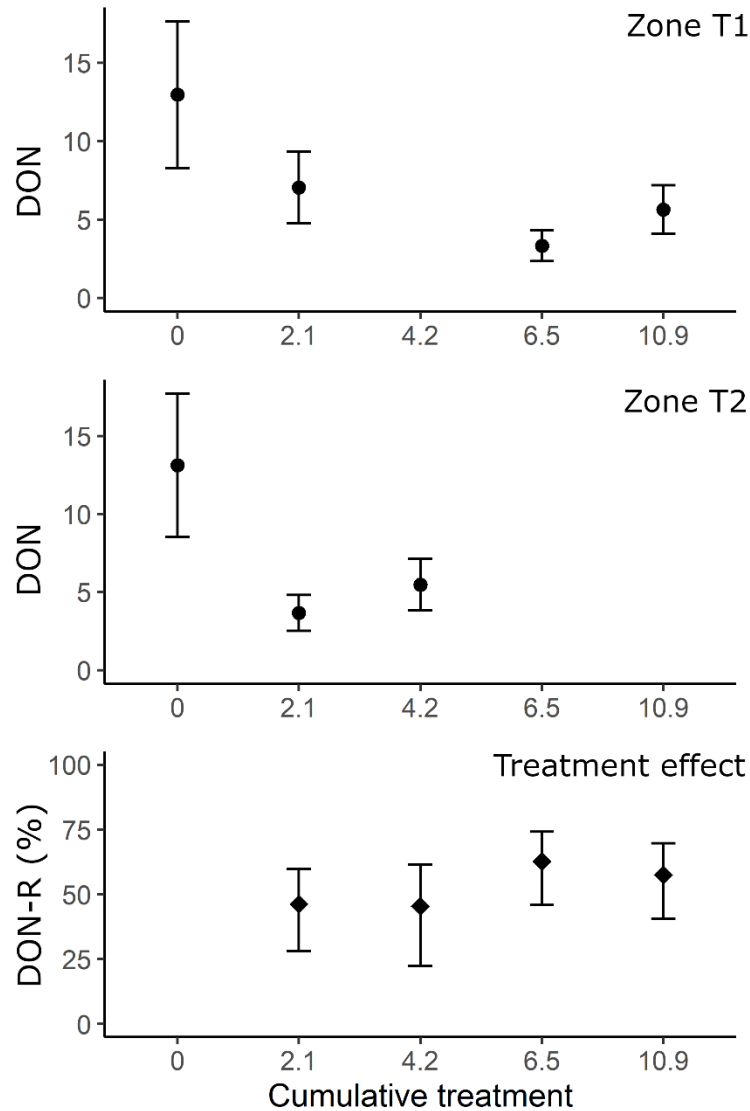


Figure 9. The effect of cumulative treatment on the density of questing nymphs (DON). Upper and lower panels show the adjusted DON per 100m² ± CI95 predicted by the final GLMM in zone T1 and T2, respectively. Lower panel shows the DON reduction (DON-R) ± CI95 of cumulative treatment values. DON-R ± CI95 were computed by subtracting the null hypothesis (RD between no treatment and cumulative treatment = 1) from each cumulative treatment values RD ± CI95 with no treatment (Table 4). Computed that way, it represents the proportion of DON reduction for each cumulative treatment values in comparison with no treatment deployment.

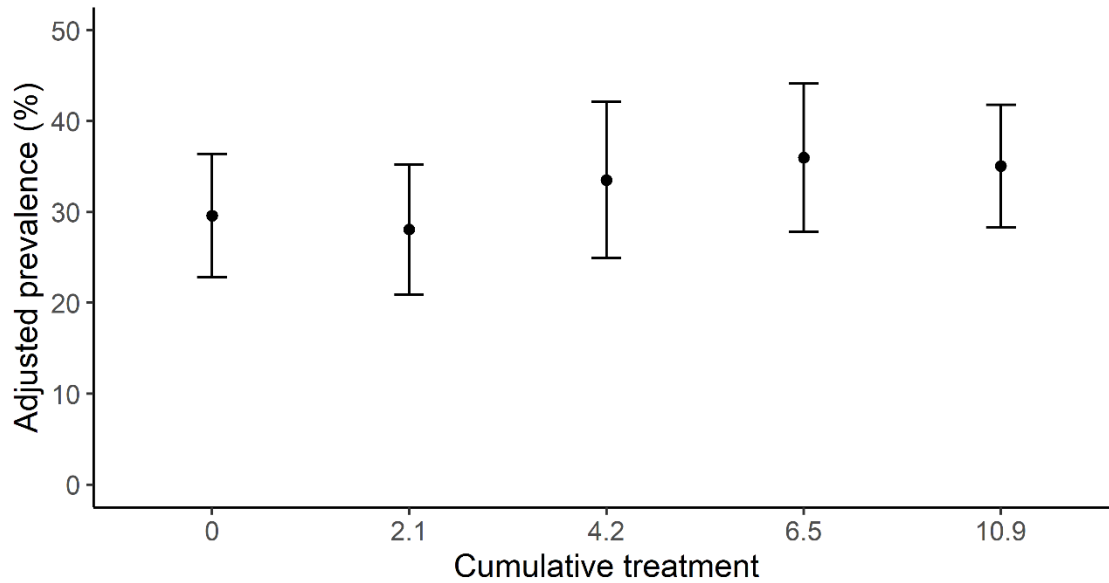


Figure 10. The effect of cumulative treatment density on prevalence infection by *B. burgdorferi* in nymphs (NIP). Black dots and error bars are respectively the predicted values \pm CI95 computed from the final GLMM.

Tables

Table 18. Prevalence of *B. burgdorferi*-infected mice per zone and period of capture

Year	Deployed bait density	Cumulative treatment	Zone	Pre-Tx		Tx		Total	
				Prev. (%) [Bb+/n] ^A	Nb. of adults	Prev. (%) [Bb+/n] ^A	Nb. of adults	Prev. (%) [Bb+/n] ^A	Nb. of adults
2016	0.0	0.0	C			41.2 [7/17]	5	41.2 [7/17]	5
2016	2.1	0.0	T1			55.6 [10/18]	14	55.6 [10/18]	14
2017	2.1	0.0	T2	53.8 [7/13]	8	30.8 [4/13]	5	42.3 [11/26]	13
2017	0.0	0.0	C	65.4 [17/26]	18	47.4 [9/19]	9	57.8 [26/45]	27
2017	4.4	2.1	T1	53.6 [15/28]	18	22.7 [5/22]	8	40.0 [20/50]	26
2018	2.1	2.1	T2	60.0 [12/20]	17	52.6 [10/19]	15	56.4 [22/39]	32
2018	0.0	0.0	C	83.3 [20/24]	22	68.4 [13/19]	16	76.7 [33/43]	38
2018	4.4	6.5	T1	41.7 [10/24]	14	35.0 [7/20]	13	38.6 [17/44]	27
			Total	60.0 [81/135]	97	44.2 [65/147]	85	51.8 [146/282]	182

Nb. = Number, Prev. = Prevalence, Pre-Tx = mice captured before application of the treatment, Tx = mice captured during application of the treatment.

Note: In 2016, there was not enough animal captured during the Pre-Tx period to allow data interpretation.

^AThe number of *B. burgdorferi*-infected mice (Bb+) divided by the number of mice captured (n).

Table 19. Estimates (β) from the binomial GLMM built to investigate the relation between the treatment and mouse infection by *B. burgdorferi*

Variables	Categories	β [SE]	OR [CI95]	P-value
Density (ref. 0)	2.1	-0.44 [0.32]	0.64 [0.74 - 8.96]	0.173
	6.5	-0.98 [0.41]	0.37 [0.17 - 0.83]	0.015
Age (ref. subadults)	Adults	2.33 [0.34]	10.36 [5.30 - 20.25]	< 0.001

CI95 = 95% confidence interval, OR = odds ratio, SE = standard error.

Table 20. The density of nymphs and the prevalence of infected nymphs per year

Year	Deployed bait density	Cumulative treatment	Zone	Nymphs	Efforts ^A	DON (nymphs/efforts)	NIP (%) [Bb+/tested] ^B
2016	0.0	0.0	C	71	11.25	6.31	22.5 [16/71]
2016	2.1	0.0	T1	142	12.00	11.83	12.7 [18/142]
2017	2.1	0.0	T2	251	21.50	11.67	32.9 [50/152]
2017	0.0	0.0	C	237	42.00	5.64	29.6 [34/115]
2017	4.4	2.1	T1	317	42.00	7.54	30.0 [39/130]
2018	2.1	2.1	T2	155	48.25	3.21	26.2 [34/130]
2018	0.0	0.0	C	173	67.50	2.56	40.3 [48/119]
2018	4.4	6.5	T1	215	67.50	3.19	33.5 [60/179]
2019	2.1	4.2	T2	266	49.50	5.37	36.0 [59/164]
2019	0.0	0.0	C	173	69.00	2.51	37.7 [57/151]
2019	4.4	10.9	T1	391	68.75	5.69	35.1 [101/288]
Total				2391	499.25	4.79	31.4 [516/1641]

DON = Density of questing nymphs, NIP = prevalence of *B. burgdorferi*-infected nymphs.

^AThe total surface sampled in 100m².

^BThe number of *B. burgdorferi*-infected nymphs (Bb+) divided by the number nymphs tested (n).

Table 21. Estimates (β) of the negative binomial GLMM built to investigation the association between the density of nymphs and the treatment

Variables	Categories	β [SE]	RD [CI95]	P-value
Cumulate treatment (ref. 0)	2.1	-0.62 [0.14]	0.54 [0.40 - 0.72]	< 0.001
	4.2	-0.61 [0.18]	0.54 [0.38 - 0.78]	< 0.001
	6.5	-0.98 [0.19]	0.38 [0.26 - 0.54]	< 0.001
	10.9	-0.86 [0.17]	0.42 [0.30 - 0.59]	< 0.001
Zone (ref. C)	T1	0.84 [0.22]	2.32 [1.49 - 3.56]	< 0.001
	T2	1.13 [0.22]	3.10 [2.01 - 4.76]	< 0.001
Cohort (ref. 2016-2018)	2017-2019	0.48 [0.10]	1.61 [1.33 - 1.95]	< 0.001
Month (ref. May)	June	3.15 [0.22]	23.33 [15.33 - 35.52]	< 0.001
	July	2.98 [0.22]	19.69 [12.49 - 29.96]	< 0.001
	August	2.27 [0.22]	9.68 [6.30 - 14.88]	< 0.001

CI95 = 95% confidence interval, RD = relative density, SE = standard error.

Table 22. Estimates (β) of the binomial GLMM built to investigation the association between the prevalence of *B. burgdorferi*-infected nymphs and the treatment

Variables	Categories	β [SE]	OR [CI95]	P-value
Cumulate treatment (ref. 0)	2.1	-0.29 [0.43]	0.75 [0.53 - 1.07]	0.108
	4.2	-0.25 [0.18]	0.78 [0.49 - 1.23]	0.284
	6.5	-0.03 [0.19]	0.97 [0.62 - 1.52]	0.883
	10.9	-0.08 [0.17]	0.92 [0.61 - 1.39]	0.705
Year (ref. 2016)	2017	1.02 [0.23]	2.77 [1.78 - 4.32]	< 0.001
	2018	1.22 [0.25]	3.38 [2.06 - 5.55]	< 0.001
	2019	1.20 [0.26]	3.32 [2.01 - 5.48]	< 0.001
Month (ref. May)	June	-1.07 [0.39]	0.34 [0.16 - 0.73]	0.006
	July	-0.84 [0.39]	0.43 [0.20 - 0.92]	0.029
	August	-1.14 [0.40]	0.32 [0.15 - 0.71]	0.005

CI95 = 95% confidence interval, OR = odds ratio, SE = standard error.

Chapitre 4 - Pharmacological studies and pharmacokinetic modeling to support the development of interventions targeting ecological reservoirs of Lyme disease²⁹

*Jérôme Pelletier^{1 2 3}, Catherine Bouchard^{2 4}, Cécile Aenishaenslin^{1 2 3}, Francis Beaudry^{5 6}, Nicholas H. Ogden^{2 4}, Patrick A. Leighton^{1 2 3} and Jean-Philippe Rocheleau^{2 7}.

*jerome.pelletier.1@umontreal.ca

¹Département de pathologie et microbiologie, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada.

²Groupe de recherche en épidémiologie des zoonoses et santé publique, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal Saint-Hyacinthe, Québec, Canada.

³Centre de recherche en santé publique de l'Université de Montréal et du CIUSSS du Centre-Sud-de-l'Île-de-Montréal, Montréal, Québec, Canada.

⁴Public Health Risk Sciences Division, National Microbiology Laboratory, Public Health Agency of Canada, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada.

⁵Département de biomédecine vétérinaire, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada.

⁶Centre de recherche sur le cerveau et l'apprentissage (CIRCA), Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

⁷Département de santé animale, CÉGEP de Saint-Hyacinthe, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada.

²⁹ Article soumis dans la revue *Nature Ecology and Evolution*

Abstract

The development of interventions targeting reservoirs of *Borrelia burgdorferi* with acaricide to reduce the density of infected ticks faces numerous challenges imposed by ecological and operational limits. In this study, the pharmacokinetics, efficacy and toxicology of fluralaner were investigated in *Mus musculus* and *Peromyscus leucopus* mice, the main reservoir of *B. burgdorferi* in North America. Fluralaner showed rapid distribution and elimination, leading to fast plasma concentration (C_p) depletion followed by a slow elimination rate, resulting in a long terminal half-life. Efficacy fell below 100% while C_p (\pm standard deviation) decreased from 196 ± 54 to 119 ± 62 ng/mL. These experimental results were then used in simulations of fluralaner treatment for a duration equivalent to the active period of *Ixodes scapularis* larvae and nymphs. Simulations showed that dosage as low as 10 mg/kg have the potential to protect *P. leucopus* against infestation for a full *I. scapularis* active season if administered at least once every 7 days. This study shows that investigating the pharmacology of candidate acaricides in combination with pharmacokinetic simulations can provide important information to support the development of effective interventions targeting ecological reservoirs of Lyme disease. It therefore represents a critical step that may help surpass limits inherent to the development of these interventions.

Keywords: Fluralaner, Pharmacology, Lyme disease, *Mus musculus*, *Peromyscus* spp., *Ixodes scapularis*, reservoirs, mathematical model

Main

Borrelia burgdorferi, the bacterial agent of Lyme disease, is maintained in the environment by a complex transmission cycle involving populations of vertebrates and ticks of the genus *Ixodes*¹⁻⁴. In eastern and central North America, *Peromyscus* mice, namely the white-footed mouse (*P. leucopus*) and the deer mouse (*P. maniculatus*), are the main reservoirs for *B. burgdorferi* and major hosts for *I. scapularis* larvae and nymphs^{2,5,6}. Thus, they play a key role in the transmission of *B. burgdorferi* by amplifying the bacteria in populations of immature host-seeking *I. scapularis* ticks^{5,6}. Therefore, treating *Peromyscus* mice with an acaricide that kills feeding larvae and nymphs could reduce the risk of Lyme disease transmission to humans, which is driven by the density of infected host-seeking *I. scapularis* ticks⁷⁻¹⁰.

Fluralaner is an acaricide in the isoxazoline family, used for the prevention of tick bites in domestic animals¹¹. Its primary mechanism of action is by inhibiting the opening of arthropods' γ -aminobutyric acid-gated chloride channels¹²⁻¹⁴. Isoxazolines' high specific affinity for arthropod receptors explains their safety at higher frequency and/or at many times the minimal effective dose when administered to mammals^{13,15}. The efficacy of isoxazolines is linked to their concentration in animal plasma (C_p)¹⁶⁻¹⁸. Fluralaner's non-compartmental half-life ($t_{1/2}$) in dogs after a single oral administration of a dose between 25 and 50 mg/kg is 12-14 days, meaning that it can kill > 90% of infesting *Ixodes* ticks on dogs for up to 3 months^{16,17,19}. In dogs, fluralaner's C_p goes up to 4,000 ng/mL in the first hours following administration and remains over 100 ng/mL for up to 60 days¹⁷.

In a previous field study, the oral administration of fluralaner to *Peromyscus* mice through baits has been associated with a 68-86% reduction of infestation with *I. scapularis* larvae and

nymphs²⁰. However, such a reduction may not result in a reduction of host-seeking infected ticks, as targeting reservoirs of *B. burgdorferi* may face limits related to ecological determinants of bacteria transmission, such as host community composition²⁰. Reservoir-targeted approaches must also deal with operational limits, some of which are related to features of the active ingredient. Efficacy, duration of action and safety all impose operational limits to an approach targeting small mammals with acaricides: the first two influence the dosage to administer and at what frequency such a dose must be made available to small mammals, while the latter is related to possible toxic effects on targeted wildlife.

In this study, we first investigated the pharmacokinetics (PK), efficacy and toxicology of fluralaner in three experiments. We then used these results to forecast and interpret outcomes of different treatment scenarios for *Peromyscus* mice. The underlying objective was to provide a comprehensive assessment of how features of an acaricide determine its applicability and efficacy for Lyme disease risk reduction, using the case of fluralaner as an example.

Results

Pharmacokinetic

The PK of fluralaner was characterized using three groups of *M. musculus* (CD1, laboratory mouse lineage), and two groups of *P. leucopus* (Pexx, wild mouse lineage) (Table 23). The CD1-1 and Pexx-1 groups were used to characterize the complete PK profile of fluralaner, including the absorption, distribution and elimination phases. A two-compartment model had the best fit for the CD1 kinetics, while a one-compartment model was a better fit for the Pexx profile (Figure 11; Extended data - Table I). The model's goodness of fit with experimental data was assessed

with the Akaike information criterion (AIC) and R^2 . The Pexx PK profile was incomplete past 10 days because fluralaner concentration was too low for quantification (Figure 11b). Results showed fast absorption in both species, with absorption $t_{1/2}$ (k_a - $t_{1/2}$) and time to maximum C_p (T_{max}) shorter and maximum C_p (C_{max}) higher in Pexx than in CD1 (Table 24). Fluralaner depletion during the distribution and elimination phases was slower in Pexx, with a longer distribution and elimination $t_{1/2}$ (α - $t_{1/2}$) than the CD1 group (Table 24).

The CD1-2, CD1-3, and Pexx-2 groups were used to characterize the PK profile of fluralaner over a two-month period after a single exposure to peanut butter baits containing fluralaner dosages of 50 or 250 mg/kg (Table 23). The best fit for CD1 kinetics was a two-compartment model (Figure 12a & b; Extended data - Table I). In the Pexx-2 group, plasma volumes less than the 25 μ L required for analysis resulted in not enough available time points to fit a compartment model with the PK profile of the group (Figure 12c). The kinetics of group CD1-2, self-treatment through a bait, showed a longer α - $t_{1/2}$ than group CD1-1, force-fed. Group CD1-3 showed a longer redistribution and elimination $t_{1/2}$ (β - $t_{1/2}$) than group CD1-2 (Table 24). Every PK profile with β - $t_{1/2}$ values showed a long C_p reduction phase lasting for weeks, in which fluralaner could be detected at low concentrations in blood (Table 24).

Efficacy

The efficacy of fluralaner at killing *I. scapularis* larvae at chosen dosages was tested on two Pexx groups (Table 23). Experimental infestations were performed at regular intervals, and percent reduction in attached living larvae between the treated (Pexx-2) and placebo (Pexx-3) groups was computed (Extended data - Table II). On day 4 (CI99: 88 - 100) and 11 (CI99: 74 - 100), reduction in counted attached living larvae was 100% (Figure 12d). Fluralaner efficacy began to

decline between day 11 and day 18 (75%; CI99: 32 - 93) and showed no further significant reduction on day 25 (Extended data - Table II). Between days 11 and 18, fluralaner C_p (\pm standard deviation [SD]) decreased from 196 ± 52 ng/mL to 119 ± 62 ng/mL (Fig. 9c).

Toxicology

This experiment was performed with four groups of CD1 mice. Groups CD1-4 and CD1-6, treated with 1000 mg/kg fluralaner baits, were compared with untreated groups CD1-5 and CD1-7 for clinical examination and for anatomical pathology (Table 18). Examination of the mice showed no difference between treated and control groups. There were no clinical signs of toxic effects after ingestion of fluralaner during follow-up of groups CD1-4 (7 days) and CD1-6 (30 days). After the follow-up period, mice were euthanized and examined for visible anatomical lesions ([Annexe 4 - Necropsy procedure](#)). Organs were weighed and samples were taken for a complete histopathological analysis on 3 individuals from each group. There was no significant difference in organ weight or relative weight (organ weight/mouse weight) between treated groups and their respective control groups (Extended data - Table III). No visible or microscopic anatomical lesions were present in the filter organs of the treated groups.

Chemistry parameters of group CD1-4 and CD1-6 were compared with normal values from mice of the same age provided by Charles River Laboratories (Wilmington, MA, USA) (Extended data - Table IV). The analysis of hepatic and renal parameters did not increase, suggesting no toxic effect on these organs. One male mouse in group CD1-6 presented a high blood nitrogen urea (BUN = 35 mg/dl), but no other anomaly was identified. Both groups presented values for total proteins (TPR) slightly below normal values (Extended data - Table IV).

Simulations

A PK model was built to simulate the movement of fluralaner between the gut, central and peripheral compartments based on three differential equations. Rates of transfer between compartments were computed from the CD1 and Pexx PK profiles (Figure 11, Extended data - Table V). A set of 100 different fluralaner dosages (from 10 to 1000 mg/kg) and 30 different administration intervals (from 7 to 210 days) were used to generate a total of 3000 treatment scenarios for a maximum treatment period of 210 days, which represents the larval and nymphal *I. scapularis* activity period in northeastern North America (April through October)²³.

Scenarios in which fluralaner C_p was > 196 ng/mL or > 119 ng/mL, the minimum concentrations with 100% and 75% efficacy respectively, for the 210-day period were extracted from the Pexx and CD1 model outputs. Maximum administration intervals between 2 doses that would allow C_p to stay over both thresholds were then computed and plotted (Figure 13). Thirty-two percent (32%, $n = 960$) and 22% ($n = 660$) of simulated scenarios resulted in 100% protection against infestation for 210 days for Pexx and CD1, respectively. Forty percent (Pexx, 40%, $n = 1200$) and 27% (CD1, $n = 810$) of scenarios could provide efficacy that would never go below 75%. The 960 scenarios providing 210-day protection against larval *I. scapularis* in Pexx included the administration of a 250 mg/kg bait every 42 days (a frequency of 5 administrations per season) or a 50 mg/kg bait every 14 days (a frequency of 15 administrations) (Figure 14a & b).

Discussion

This study provides an extensive analysis of fluralaner pharmacology in *M. musculus* and *P. leucopus* mice. We used pharmacological experiments in a laboratory setting in combination

with PK modelling to forecast the outcomes of different treatment scenarios on the efficacy of a treatment to kill immature *I. scapularis* ticks infesting *Peromyscus* spp. mice in the field. Our results suggest that the thorough study of the pharmacology of a candidate acaricide in a *B. burgdorferi* reservoir species, the approach described in this article, represents a critical step in the development of such interventions by providing essential data to guide the design of subsequent field experiments, thereby maximizing their likelihood of success. These results also highlight how pharmacological features of a specific acaricide may influence the development of interventions targeting *B. burgdorferi* reservoirs and impose operational limits.

The efficacy of isoxazolines is linked with their C_p , which in turn depends on the dosage administered and on the frequency at which a dose is made available¹⁸. These two parameters are critical to ensuring that animal C_p of the active ingredient remains in a therapeutic range. In this study, we aimed to apply this concept in the context of treatment of small mammal populations with acaricides. The treatment must be administered at a dosage high enough to fully protect target animals against tick bites, and at a sufficient rate to ensure the animals maintain this protection long enough to maximize the effect on the transmission of *B. burgdorferi*. In this study, we first identified fluralaner pharmacological parameters that determine dosage and treatment effectiveness at killing infesting *I. scapularis* larvae. Then, the simulations provided different combinations of fluralaner dosages and frequency of administration that could protect susceptible *Peromyscus* mice against infestation by larval and nymphal *I. scapularis* for a complete season of activity. In the remaining scenarios, such as presented in Figure 14c, the C_p falls below the threshold of efficacy, which can mitigate the

effect by reducing the fraction of immature *I. scapularis* ticks killed by the treatment and create subtherapeutic conditions that may drive the development of drug resistance²¹.

While the model provides guidance regarding how the pharmacological properties of fluralaner in *Peromyscus* mice impose limits to interventions targeting *B. burgdorferi* reservoirs with acaricide, other operational limits must be highlighted. Some scenarios may be inapplicable despite resulting in a full 210-day coverage against larval infestation. Three of these are identified in Figure 14. Two are not part of the 3,000 scenarios tested in this study but were computed to support the discussion. First, the scenario presented in Figure 14f demonstrates limits related to human involvement. Needing a human to refill baits every day may pose challenges regarding compliance to the treatment protocol and/or high cost if performed by workers. The scenario in Figure 14e highlights the negative effects that may result if too much acaricide is administered. To obtain such a high C_p , the product must either be administered with such a large amount of bait that it may not be consumable, or given pure, in which case it may not be palatable (unpublished results). Overuse of acaricides can also contribute to increase the spread of veterinary drugs in the environment²². Finally, the scenario presented in Figure 14d is part of the 3000 tested scenarios and combines both limits. It highlights the necessary balance between effectiveness and efficiency. Keeping mouse C_p high over the therapeutic threshold may represent a waste of compounds and of working time that may affect the cost-effectiveness of interventions.

The results described in this study also highlight differences in fluralaner PK between mice and dogs. A faster C_p depletion in the first days is a major factor explaining the shorter duration of action in CD1 and Pexx mice. In CD1 mice, mean fluralaner C_p following a single force-fed oral

dosage of 50 mg/kg decreased below 100 ng/mL in less than 5 days, while Pexx mice mean C_p was still at or above 110 ng/mL 18 days after administration. Kilp et al (2014) showed that, following a single dose of 50 mg/kg in dogs, mean C_p at or above 100 ng/mL was observed 56 days after administration of the treatment. The non-compartmental $t_{1/2}$ of fluralaner in dogs was shown to be between 12 and 14 days¹⁷. In the present study, results suggest that fluralaner kinetics in mice fit better with a 2-compartment model, and analyses showed that $t_{1/2}$ during the distribution and elimination phase is 6.6 and 38.8 hours for CD1 and Pexx mice, respectively. A hypothesis suggested to explain the rapid elimination in mice is higher blood flow to the liver, which is the main organ for the clearance of isoxazolines^{16,17,23,24}. In our results, this phenomenon seems to be slower in Pexx mice. This difference between CD1 and Pexx mice may explain why dosages as low as 10 mg/kg showed the potential to provide 210-day protection in the Pexx model whereas, in the CD1 model, no dosages below 80 mg/kg showed such potential. It is plausible that using CD1 data after 10 days to complete the Pexx kinetic profile resulted in an underestimate of fluralaner C_p past that time point. However, most variation in fluralaner concentration occurs during the distribution phase, which is fully captured in the present study. The C_p threshold of fluralaner efficacy reported in this study is similar to what is reported in the literature. Concurrently with the loss of 100% efficacy at killing *I. scapularis* larvae, i.e., between 11 and 18 days after treatment administration, fluralaner C_p decreased from 196 ng/mL (352 nmol/mL) to 119 ng/mL (213 nmol/mL). In comparison, afoxolaner is estimated to provide 90% efficacy at killing adult *Rhipicephalus sanguineus* ticks at a C_p of 110 ng/mL (301 nmol/mL) in dogs¹⁸. In their assessment of afoxolaner efficacy at killing adult *R. sanguineus* in dogs, Letendre et al (2014) used a sigmoid maximum effect (E_{max}) model. These models are used to describe the

relationship between the concentration of a drug and its effect. Using such models to test the efficacy of acaricides in *Peromyscus* mice could help in determining efficacy thresholds and improve results used to interpret the outputs of the different scenarios. In this study, efficacy was tested only on larval *I. scapularis*; testing efficacy with nymphal ticks should be a further research avenue.

Providing baits with fluralaner dosage as high as 1000 mg/kg did not result in toxic effects. This suggests that dosages much higher than the recommended dose of 25 mg/kg in dogs or the 250 mg/kg tested in this study can be used with low probability of harming mice. An association with isoxazolines has been suspected in cases of neurological adverse events^{25,26}. No such clinical signs were observed in the tested groups. However, the administration of fixed fluralaner doses through peanut butter baits consumed voluntarily could lead to disparities between the dose contained in the bait and the dose consumed by the animals, and the results provided by this study should be interpreted with this consideration in mind. This element of the study design was chosen to keep the conditions in the laboratory setting closer to those under which treatment is administered to small mammal populations in the field. In our view, this approach is the best way to represent the effects of treatment, in terms of efficacy and toxicity, when deployed in an interventional context.

The PK model outcomes may also be influenced by the fact that they were built with experimental data from force-fed groups. Fluralaner kinetics are influenced by administration with food, as reported in the literature and suggested by the PK results²⁷. Administration with food is associated with higher bioavailability, which may result in a longer duration of action

when fluralaner is administered through a peanut butter bait. Therefore, the models developed in this study could be further improved by incorporating bioavailability features.

In summary, the facts reported in this study highlight the importance of thorough pharmacological studies in reservoir species of *B. burgdorferi*, as they may influence further field studies and intervention design. In the context of the fluralaner treatment of *Peromyscus* mice, efficacy reduction in the first 2 weeks after the administration of a single oral dose impose operational limits that have a major influence on further development steps. To provide comprehensive guidance on the impact of those limits, we used an innovative transdisciplinary approach combining experimental data on fluralaner pharmacology with the development of a PK model to perform simulations of different treatment scenarios. Next steps in the development of the model should be the integration of economic data that could give guidance on the most cost-effective scenarios, such as Carrera-Pineyro et al (2020) did with an intervention targeting small mammals with an anti-*B. burgdorferi* vaccine²⁸. Interventions targeting reservoirs of *B. burgdorferi* must also cope with ecological limits inherent to local drivers of bacteria transmission and of *I. scapularis* population amplification, such as host community composition²⁹⁻³². Eventually, models integrating acaricide PK and various drivers of the *B. burgdorferi* endemic cycle may provide more complete assessment of effectiveness and more precise forecasted data of those interventions^{30,33-35}. We argue that these may become major tools to guide intervention development. This study is a first step in that direction for interventions targeting *B. burgdorferi* reservoirs with acaricide.

Methods

Animals

In this study, 84 CD1 mice (Charles River Laboratories), aged 3 months with a mean weight (\pm SD) of 26.7 ± 2.8 g, and 58 Pexx mice (Peromyscus Genetic Stock Center, University of South Carolina, Columbia, SC, USA), aged from 6 to 12 months with a mean weight (\pm SD) of 19.9 ± 3.1 g, were used. Upon arrival in their laboratory housing rooms, mice followed a minimal acclimatization period of 7 days prior to the study start. Each group was designed to have the same proportion of males and females. Mice were housed individually to ensure that only one mouse consumed the treatment and to avoid mutual grooming. They had continuous access to food (Charles River Rodents, Charles River Laboratories) and tap water for the duration of the study. Cages were enriched with shelters and nestlets to increase animal well-being. All mice were housed in the same room with a 12-hour day / night light cycle; humidity was maintained between 50% and 70% and temperature between 22°C and 25°C. Experiments with CD1 and Pexx mice took place at different times to avoid contact between species. All animal experiments were performed in agreement with Canadian Council on Animal Care regulation and with the ethical approval of the institutional animal ethics committee of CÉGEP de Saint-Hyacinthe.

Treatment administration and follow-up period

Oral treatment was administered by one of two routes: force-feeding (groups CD1-1 and Pexx-1) or baits (groups CD1-2, CD1-3, CD1-4, CD1-6, and Pexx-2). Force-feeding was given to experimental groups that were used to characterize PK during the first hour following administration. The force-feeding solution was composed of peanut oil and pure (> 98%)

fluralaner powder (MedKoo Biosciences Inc., Morrisville, NC, USA); it was administered with a flexible cannula (Sigma-Aldrich, Saint-Louis, MO, USA) at a volume necessary to provide the targeted dosage but not exceeding 10 mL/kg (Table 23). Baits were used with the aim of mimicking fluralaner PK, efficacy, or toxicology in a context as close as possible to that of treatment deployment in a natural environment. In this respect, baits were administered in the presence of food competition. Baits were a mixture of peanut butter and a commercial formulation of fluralaner (Merck Animal Health, Madison, NJ, USA). The Pexx-3 group was a placebo control for the experimental group Pexx-2. As such, mice in this group received a bait made of pure peanut butter. Treatment consumption was assessed by weighing baits within 48 hours of administration.

Mice were weighed periodically during the study. The general health status of the CD1-4, CD1-5 CD1-6 and CD1-7 groups were moreover followed up until pathology analysis.

Infestation, larva count and anesthesia

For the Pexx-2 and Pexx-3 groups, experimental infestations took place at 2, 9, 16, 23, 30 and 44 days after treatment administration. Larvae used for infestation were provided by the Centers for Disease Control and Prevention for distribution by BEI Resources (Manassas, VA, USA) and by the National Microbiology Laboratory (Winnipeg, MB, Canada). To maximize larval attachment, mouse infestations were done under general anesthesia for 1 hour with heater carpets as thermal support and with an injection of subcutaneous fluid (0.5 mL of NaCl 0.9%)²⁴. During infestation, 20 unfed *I. scapularis* larvae were placed on the ears and fur of each mouse using fine-tipped forceps. Larvae were 3 to 6 months old and had typical host-seeking behaviours when applied on mice. At 48 hours post-infestation, mice were visually inspected

under anesthesia for a maximum of 5 minutes by observers blinded to the treatment, who followed a systematic procedure to count the number of attached larvae²⁴. Subsequently, the attached larvae were removed with fine-tipped forceps and observed under a binocular microscope to characterize them as dead or alive according to the protocol developed by Pelletier et al (2020)²⁴.

All anesthesia performed in this study followed the same protocol. Animals were induced with a mixture of isoflurane and medical grade oxygen at a 5% concentration, and then maintained with an isoflurane concentration between 1% and 2%.

Blood samples

Blood samples were taken by terminal intracardiac puncture under general anesthesia for the short-term PK (CD1-1 and Pexx-1). Three mice from each group were sampled at each short-term PK time point: 0.5 (n = 4 for group CD1-1), 1, 2, 4, 8, 20 (group Pexx-1 only), 24, 48 and 72 hours after treatment administration. Repeated blood samples were taken via the lateral saphenous veins from the remaining animals in the CD1-1 and Pexx-1 groups to characterize fluralaner PK on a longer time scale. Five animals were sampled at a first time point (CD1-1 = 20 h and Pexx-1 = 12 h), then 5 animals were sampled in rotation every week for a maximum of 2 months.

The CD1-2, CD1-3 and Pexx-2 groups were used to characterize PK over a 2-month period. Blood samples were taken from the lateral saphenous vein on 5 animals per group at 42 hours (CD1-2), 48 hours (CD1-3) and 96 hours (Pexx-2) after treatment administration. Punctures from the lateral saphenous vein were then performed every week on subgroups of 4 to 5 mice in

rotation. The last, intracardiac puncture, performed under anesthesia, was taken at 50, 51 and 45 days for the CD1-2, CD1-3 and Pexx-2 groups, respectively. For the Pexx-2 group, puncture was done on the day of the experimental infestations.

Blood samples from the CD1-4 and CD1-6 groups were taken through intracardiac puncture at the time they were sacrificed for pathology analysis. No blood samples were taken from groups CD1-5 and CD1-7.

Determination of fluralaner blood concentration

To characterize fluralaner PK, blood was centrifuged at 1,500×g for 10 minutes at 4°C to extract the plasma. Plasma samples were analyzed by high-performance liquid chromatography mass spectrometry (HPLC-MS) to obtain fluralaner C_p . For protein precipitation and fluralaner extraction, 100 µL (Pexx) or 200 µL (CD1) of internal standard solution (100 ng/mL of reserpine in methanol) was added to 25 or 50 µL of plasma samples, respectively. For Pexx, if plasma volume was < 25 µL, samples were diluted with untreated *M. musculus* mouse plasma (Charles River Laboratories). The dilution factor was used after quantification to obtain the real C_p . The sample was vortexed and left to stand for a period of 10 minutes, then centrifuged at 12,000×g for 10 minutes. The supernatant was transferred into an injection vial for HPLC-MS analysis after a standing time of 5 minutes. The HPLC system was a Vanquish FLEX UHPLC system (Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA, USA) and the chromatography was achieved with a Thermo BioBasic Phenyl microbore column (Thermo Fisher Scientific) 50 × 1 mm, with a particle size of 5. The flow rate was fixed at 75 µL/min and 2 µL of samples were injected. A Q Exactive Orbitrap Plus mass spectrometer (Thermo Fisher Scientific) was interfaced with the Vanquish FLEX UHPLC system using a pneumatic-assisted, heated electrospray ion source. Chromatographic and mass

spectrometry conditions and quantification procedures were the same as previously described by Pelletier et al (2020). The observed precision and accuracy were < 15%.

Clinical and anatomical pathology

Blood samples from groups CD1-4 and CD1-6 were transferred into dry tubes and sent to Biovet Inc. (Saint-Hyacinthe, QC, Canada) for biochemistry analysis. Subsequently, mouse carcasses were dissected according to a systematic procedure ([Annexe 4 - Necropsy procedure](#)). All samples were preserved in 10% formaldehyde at room temperature for a maximum of 3 months and were sent to the Laboratoire d'épidémiosurveillance animale du Québec (Saint-Hyacinthe, QC, Canada) for tissue preparation and histopathologic analysis.

Data analysis

Compartmental analysis. Before analysis, the mean fluralaner C_p was computed for each group at every time point. One-compartment and two-compartment models were fitted, when sufficient data were available, on each group's PK profile. PK parameters were computed from models that best fit experimental data. In cases where fitting compartment models was not possible, PK parameters were estimated with non-compartmental analysis.

Treatment efficacy. First, the ratios of the counts of attached living larvae (R_t) between treated and control groups were computed, with their 99% confidence intervals, with Poisson exact tests. This was done for each time point of treatment evaluation, i.e., at 4, 11, 18, 25, 32 and 46 days after treatment administration. Second, treatment efficacy was calculated by subtracting the computed ratio from the null hypothesis value of 1:

$$Efficacy_t (\%) = 1 - R_t$$

where R_t is R_L with their 99% confidence limits for an evaluation time point t . Under that formulation, the efficacy corresponds to the excess fraction of ticks killed because of the treatment 48 hours after exposure of larvae to the treatment. It was assumed that the difference in killed ticks in the treatment group was due to the acaricide effect of fluralaner and not to any repulsive effect.

Pharmacokinetic model. Fluralaner micro-constants (k_a , k_{12} , k_{21} and k_{10}) were computed from compartment models fitted in the PK experiment (Extended data - Table V). Micro-constants represent the rate of fluralaner molecule transfer between compartments. For the Pexx group, a two-compartment model was fitted by using CD1 experimental data past 10 days (Fig. 1). CD1 or Pexx micro-constants were used in 3 differential equations as transfer rates between 3 compartments: 2 pharmacological compartments (central = C_p and peripheral = P) and a gut compartment (G) used for treatment administration:

$$\frac{dG}{dt} = -k_a * G_t$$

$$\frac{dC_p}{dt} = k_a * G_t - k_{12} * C_{p_t} + k_{21} * P_t - k_{10} * C_{p_t}$$

$$\frac{dP}{dt} = k_{12} * C_{p_t} - k_{21} * P_t$$

Simulations were performed by combining 100 fluralaner doses (from 10 to 1000 mg/kg in 10 mg/kg increments) introduced in the model through the gut compartment and 30 administration intervals (from 7 to 210 days in 7-day increments) for an equivalent duration of 210 days. Thus, central compartment data from the model represent fluralaner C_p (in ng/mL) associated with each of 3000 210-day treatment scenarios. These data were extracted from the

model output, and the maximum intervals allowing fluralaner C_p to stay over specific thresholds were then plotted against administered doses.

Software. Compartmental analysis of PK profiles and PK parameter or micro-constant computations were performed with PKsolver addons for Excel software (version 2108)³⁶. Statistical testing was performed with R software version 4.1.1³⁷. Differential equations were performed with the *rk* function of the *desolve* package³⁸. The *ggplot2* and *cowplot* packages were used for data visualization³⁹⁻⁴⁰.

Acknowledgements

We thank the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) and Fonds de Recherche du Québec – Nature et Technologie (grant no. 261567 to Jean-Philippe Rocheleau), which funded this study. We also thank all the assistants who participated in this study; this work would not have been possible without their efforts. A special thank-you to Dr Marilène Paquet for her valuable advice regarding pathological analyses and for ensuring a link between the research team and the analysis laboratory. Bioanalytical equipment was funded by the Canadian Foundation for Innovation (John R. Evans Leaders grant no. 36706) and the Fonds de Recherche du Québec. F. Beaudry is the holder of the Canada Research Chair in Metrology of Bioactive Molecule and Target Discovery (grant no. CRC-2021-00160). Finally, many thanks to Robin Marwick, ELS, who provided editorial support and received financial compensation.

JP, CB, CA, FB, NHO, LRL, JPR and PAL participated in the study design and protocol. JP and JPR conducted laboratory experiments. JP and FB performed mass spectrometry analysis. JP

conducted data analysis, mathematical modelling and wrote the manuscript. All authors revised the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Competing interest. None to declare

Data availability. Available on reasonable request

References

- 1 Eisen, R. J., Piesman, J., Zielinski-Gutierrez, E. & Eisen, L. What do we need to know about disease ecology to prevent Lyme disease in the northeastern United States? *J Med Entomol* 49, 11-22 (2012). <https://doi.org:10.1603/ME11138>
- 2 Piesman, J. & Gern, L. Lyme borreliosis in Europe and North America. *Parasitology* 129 Suppl, S191-S220 (2004). <https://doi.org:10.1017/S0031182003004694>
- 3 Piesman, J. & Spielman, A. Host-associations and seasonal abundance of immature *Ixodes dammini* in southeastern Massachusetts. *Ann Entomol Soc Am* 72, 829-832 (1979). <https://doi.org:10.1093/aesa/72.6.829> %J Annals of the Entomological Society of America
- 4 Margos, G., Vollmer, S. A., Ogden, N. H. & Fish, D. Population genetics, taxonomy, phylogeny and evolution of *Borrelia burgdorferi sensu lato*. *Infect Genet Evol* 11, 1545-1563 (2011). <https://doi.org:10.1016/j.meegid.2011.07.022>
- 5 Dumas, A. *et al.* Transmission patterns of tick-borne pathogens among birds and rodents in a forested park in southeastern Canada. *PLoS One* 17, e0266527 (2022). <https://doi.org:10.1371/journal.pone.0266527>

- 6 Mather, T. N., Wilson, M. L., Moore, S. I., Ribeiro, J. M. & Spielman, A. Comparing the relative potential of rodents as reservoirs of the Lyme disease spirochete (*Borrelia burgdorferi*). *Am J Epidemiol* 130, 143-150 (1989).
- 7 Dolan, M. C. *et al.* Control of immature *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) on rodent reservoirs of *Borrelia burgdorferi* in a residential community of southeastern Connecticut. *J Med Entomol* 41, 1043-1054 (2004). <https://doi.org:10.1603/0022-2585-41.6.1043>
- 8 Eisen, L. & Dolan, M. C. Evidence for personal protective measures to reduce human contact with blacklegged ticks and for environmentally based control methods to suppress host-seeking blacklegged ticks and reduce infection with Lyme disease spirochetes in tick vectors and rodent reservoirs. *J Med Entomol* (2016). <https://doi.org:10.1093/jme/tjw103>
- 9 Eisen, L. Rodent-targeted approaches to reduce acarological risk of human exposure to pathogen-infected *Ixodes* ticks. *Ticks Tick Borne Dis* 14, 102119 (2023). <https://doi.org:10.1016/j.ttbdis.2023.102119>
- 10 Pepin, K. M. *et al.* Geographic variation in the relationship between human Lyme disease incidence and density of infected host-seeking *Ixodes scapularis* nymphs in the Eastern United States. *Am J Trop Med Hyg* 86, 1062-1071 (2012). <https://doi.org:10.4269/ajtmh.2012.11-0630>
- 11 Zhou, X., Hohman, A. E. & Hsu, W. H. Current review of isoxazoline ectoparasiticides used in veterinary medicine. *J Vet Pharmacol Ther* 45, 1-15 (2021). <https://doi.org:10.1111/jvp.12959>

- 12 Casida, J. E. Golden age of RyR and GABA-R diamide and isoxazoline insecticides: common genesis, serendipity, surprises, selectivity, and safety. *Chem Res Toxicol* 28, 560-566 (2015). <https://doi.org:10.1021/tx500520w>
- 13 Gassel, M., Wolf, C., Noack, S., Williams, H. & Ilg, T. The novel isoxazoline ectoparasiticide fluralaner: selective inhibition of arthropod γ -aminobutyric acid- and L-glutamate-gated chloride channels and insecticidal/acaricidal activity. *Insect Biochem Mol Biol* 45, 111-124 (2014). <https://doi.org:10.1016/j.ibmb.2013.11.009>
- 14 Weber, T. & Selzer, P. M. Isoxazolines: a novel chemotype highly effective on ectoparasites. *Chem Med Chem* 11, 270-276 (2016). <https://doi.org:10.1002/cmdc.201500516>
- 15 Ozoe, Y., Asahi, M., Ozoe, F., Nakahira, K. & Mita, T. The antiparasitic isoxazoline A1443 is a potent blocker of insect ligand-gated chloride channels. *Biochem Biophys Res Commun* 391, 744-749 (2010). <https://doi.org:10.1016/j.bbrc.2009.11.131>
- 16 Kilp, S., Ramirez, D., Allan, M. J. & Roepke, R. K. Comparative pharmacokinetics of fluralaner in dogs and cats following single topical or intravenous administration. *Parasit Vectors* 9, 296 (2016). <https://doi.org:10.1186/s13071-016-1564-8>
- 17 Kilp, S., Ramirez, D., Allan, M. J., Roepke, R. K. & Nuernberger, M. C. Pharmacokinetics of fluralaner in dogs following a single oral or intravenous administration. *Parasit Vectors* 7, 85 (2014). <https://doi.org:10.1186/1756-3305-7-85>
- 18 Letendre, L. *et al.* The intravenous and oral pharmacokinetics of afoxolaner used as a monthly chewable antiparasitic for dogs. *Vet Parasitol* 201, 190-197 (2014). <https://doi.org:10.1016/j.vetpar.2014.02.021>

- 19 Wengenmayer, C. *et al.* The speed of kill of fluralaner (Bravecto™) against *Ixodes ricinus* ticks on dogs. *Parasit Vectors* 7, 525 (2014). <https://doi.org:10.1186/s13071-014-0525-3>
- 20 Pelletier, J. *et al.* Fluralaner baits reduce the Infestation of *Peromyscus* spp. mice (Rodentia: Cricetidae) by *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) larvae and nymphs in a natural environment. *J Med Entomol* (2022). <https://doi.org:10.1093/jme/tjac106>
- 21 Nauen, R., Slater, R., Sparks, T. C., Elbert, A. & Mccaffery, A. *IRAC: insecticide resistance and mode-of-action classification of insecticides in Modern crop protection compounds* (eds. P. Jeschke, M. Witschel, W. Krämer, & U. Schirmer). Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA 995-1012 (2019).
- 22 Diepens, N. J., Belgers, D., Buijse, L. & Roessink, I. Pet dogs transfer veterinary medicines to the environment. *Sci Total Environ* 858, 159550 (2023).
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159550>
- 23 Toutain, P. L. & Bousquet-Melou, A. Plasma clearance. *J Vet Pharmacol Ther* 27, 415-425 (2004). <https://doi.org:10.1111/j.1365-2885.2004.00605.x>
- 24 Pelletier, J. *et al.* Evaluation of fluralaner as an oral acaricide to reduce tick infestation in a wild rodent reservoir of Lyme disease. *Parasit Vectors* 13, 73 (2020).
<https://doi.org:10.1186/s13071-020-3932-7>
- 25 Food and Durg Administration. Animal drug safety communication: FDA alerts pet owners and veterinarians about potential for neurologic adverse events associated with certain flea and tick products. <https://wayback.archive-it.org/7993/20201222192100/https://www.fda.gov/animal-veterinary/cvm->

- updates/animal-drug-safety-communication-fda-alerts-pet-owners-and-veterinarians-about-potential-neurologic (2019).
- 26 Gaens, D., Rummel, C., Schmidt, M., Hamann, M. & Geyer, J. Suspected neurological toxicity after oral application of fluralaner (Bravecto(R)) in a Kooikerhondje dog. *BMC Vet Res* 15, 283 (2019). <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2016-4>
- 27 Walther, F. M., Allan, M. J., Roepke, R. K. & Nuernberger, M. C. The effect of food on the pharmacokinetics of oral fluralaner in dogs. *Parasit Vectors* 7, 84 (2014). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-84>
- 28 Carrera-Pineyro, D. *et al.* Cost analysis of vaccination in tick-mouse transmission of Lyme disease. *J Theor Biol* 494, 110245 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2020.110245>
- 29 Salkeld, D. J. & Lane, R. S. Community ecology and disease risk: lizards, squirrels, and the Lyme disease spirochete in California, USA. *Ecol* 91, 293-298 (2010). <https://doi.org/10.1890/08-2106.1>
- 30 Ogden, N. H. & Tsao, J. I. Biodiversity and Lyme disease: dilution or amplification? *Epidemics* 1, 196-206 (2009). <https://doi.org/10.1016/j.epidem.2009.06.002>
- 31 LoGiudice, K. *et al.* Impact of host community composition on Lyme disease risk. *Ecol* 89, 2841-2849 (2008). <https://doi.org/10.1890/07-1047.1>
- 32 LoGiudice, K., Ostfeld, R. S., Schmidt, K. A. & Keesing, F. The ecology of infectious disease: effects of host diversity and community composition on Lyme disease risk. *Proc Natl Acad Sci USA* 100, 567-571 (2003).
- 33 Gaff, H. *et al.* LYMESIM 2.0: An updated simulation of blacklegged tick (Acari: Ixodidae) population dynamics and enzootic transmission of *Borrelia burgdorferi* (Spirochaetales:

- Spirochaetaceae). *J Med Entomol* 57, 715-727 (2020).
<https://doi.org:10.1093/jme/tjz252>
- 34 Mount, G. A., Haile, D. G. & Daniels, E. Simulation of blacklegged tick (Acari:Ixodidae) population dynamics and transmission of *Borrelia burgdorferi*. *J Med Entomol* 34, 461-484 (1997). <https://doi.org:10.1093/jmedent/34.4.461>
- 35 Mount, G. A., Haile, D. G. & Daniels, E. Simulation of management strategies for the blacklegged tick (Acari: Ixodidae) and the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*. *J Med Entomol* 34, 672-683 (1997). <https://doi.org:10.1093/jmedent/34.6.672>
- 36 Zhang, Y., Huo, M., Zhou, J. & Xie, S. PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. *Comput Methods Programs Biomed* 99, 306-314 (2010). <https://doi.org:https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2010.01.007>
- 37 R core Team. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical (2021).
- 38 Soetaert, K., Petzoldt, T. & Setzer, R. W. Solving differential equations in R: package *deSolve*. *J Stat Softw* 33, 1-25 (2010). <https://doi.org:10.18637/jss.v033.i09>
- 39 Wilke, C. O. *cowplot*: streamlined plot theme and plot annotations for *ggplot2*. (2020). <https://CRAN.R-project.org/package=cowplot>
- 40 Wickham, H. *ggplot2: elegant graphics for data analysis*. Springer-Verlag (2009).

Figures

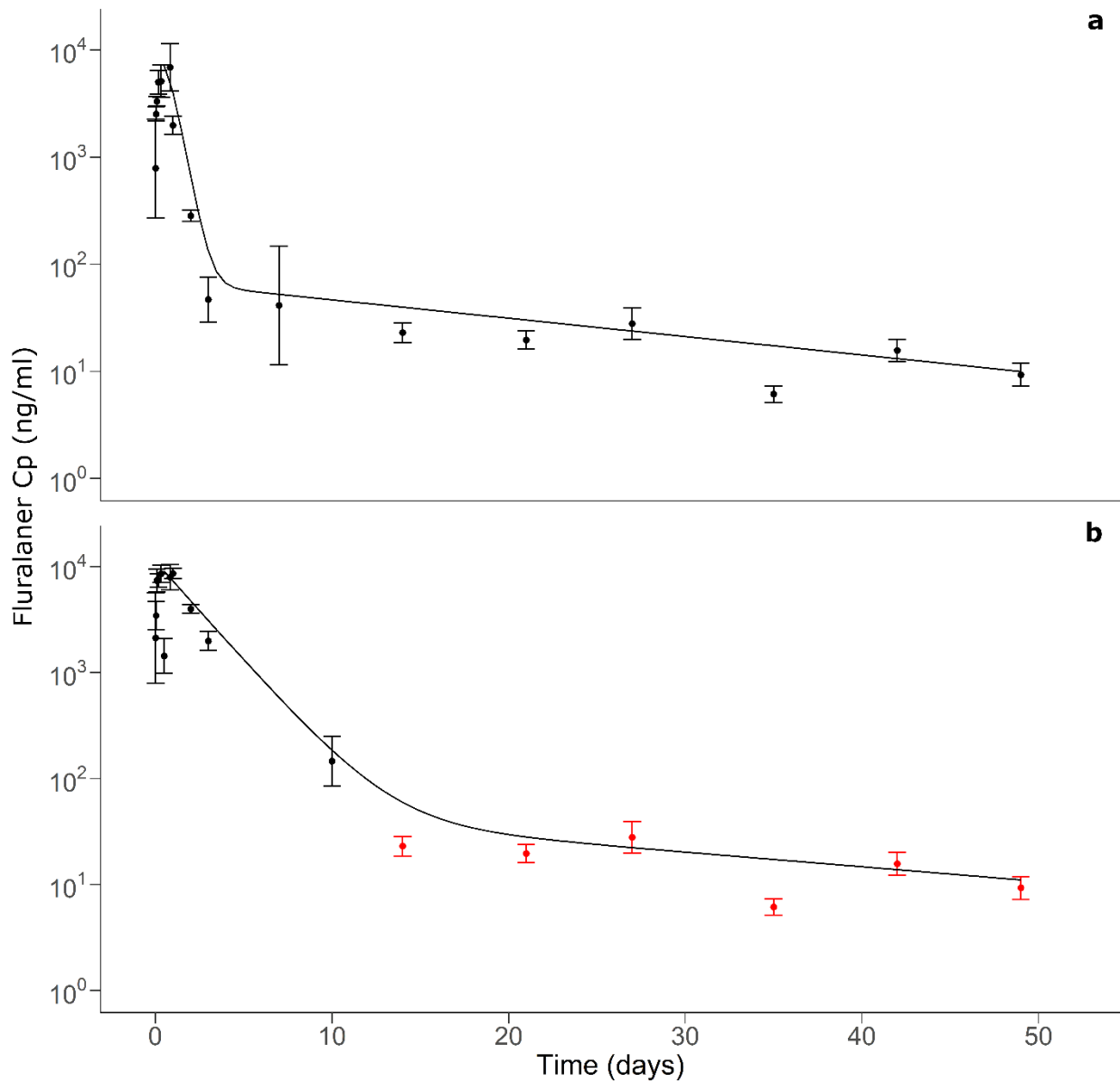


Figure 11. Pharmacokinetic profile of groups CD1-1 (a) and Pexx-1 (b). Dots are mean experimental C_p (\pm SD) and lines are predicted values from compartment model fitted with experimental data. In b, the PK profile is incomplete past 10 days. The available blood volume of Pexx is small, therefore some samples had to be diluted with untreated *M. musculus* plasma to reach the proper volume to perform mass spectrometry analysis. To compute the micro-constants necessary to perform simulations, CD1 data (red dots) were used to complete the Pexx profile and fit a two-compartment model.

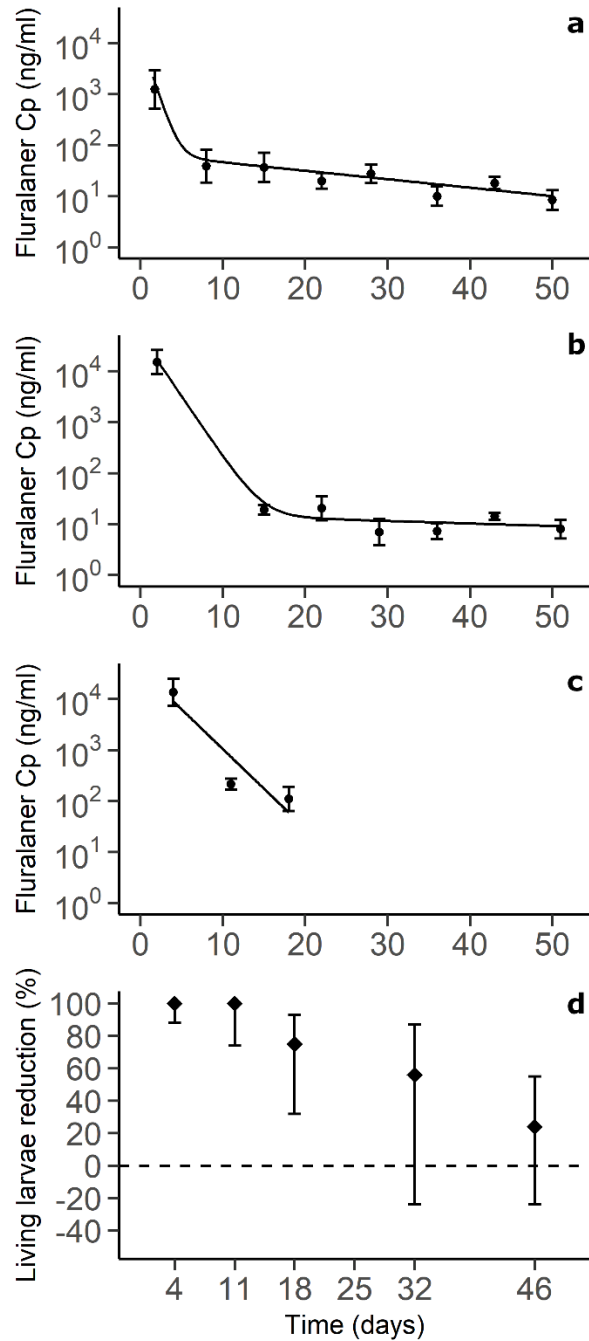


Figure 12. Pharmacokinetic profiles of groups CD1-2 (a), CD1-3 (b) and Pexx-2 (c), and the percent reduction in the number of counted attached living larvae in Pexx-2 (d). In panels a, b and c, dots are experimental values (\pm SD) and black lines are predicted values of two-compartment models fitted from experimental data. In c, not enough time points were available to perform compartmental analysis, therefore the black line is predicted values of a fitted log-linear regression. Dilution of samples with *M. musculus* plasma for mass

spectrometry analysis brought fluralaner C_p below the limit of quantification. In panel d, the percent reduction in attached living larvae in the treated group compared with the control group is shown. The ratio of counts of attached living larvae was computed, with their 99% confidence intervals, with Poisson exact tests, and then percent reduction was calculated by subtracting the computed ratio from the null hypothesis value of 1. The 25-day efficacy assessment is not shown to ease visualization (see Extended data - Table II).

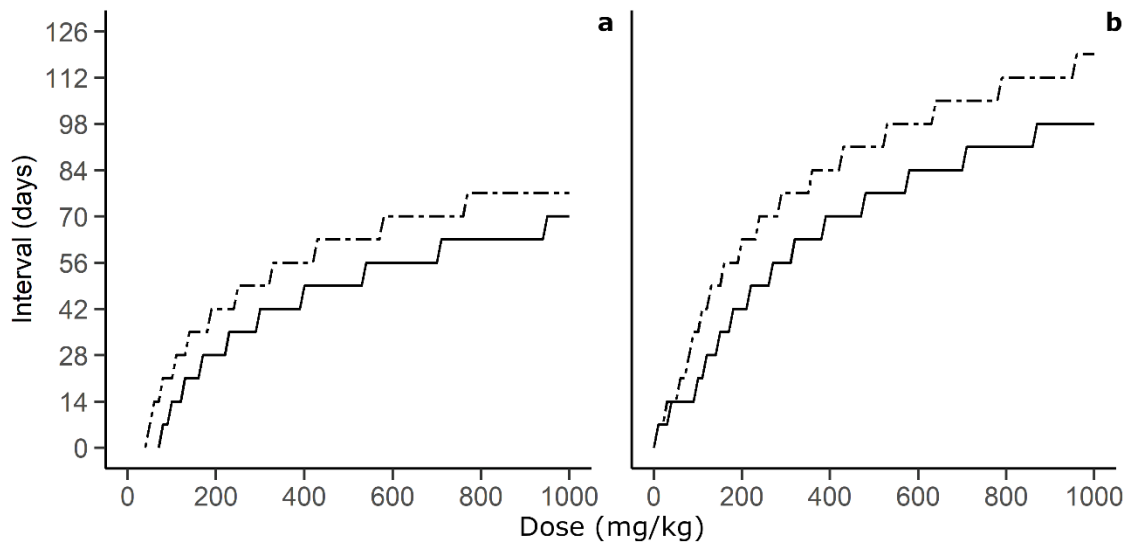


Figure 13. Maximum interval between doses that allows fluralaner C_p to stay over 196 ng/mL (solid line) or 119 ng/mL (dashed line) in CD1 (a) and Pexx mice (b). The C_p of 196 ng/mL and 119 ng/mL were associated with an efficacy of 100% and 75%, respectively.

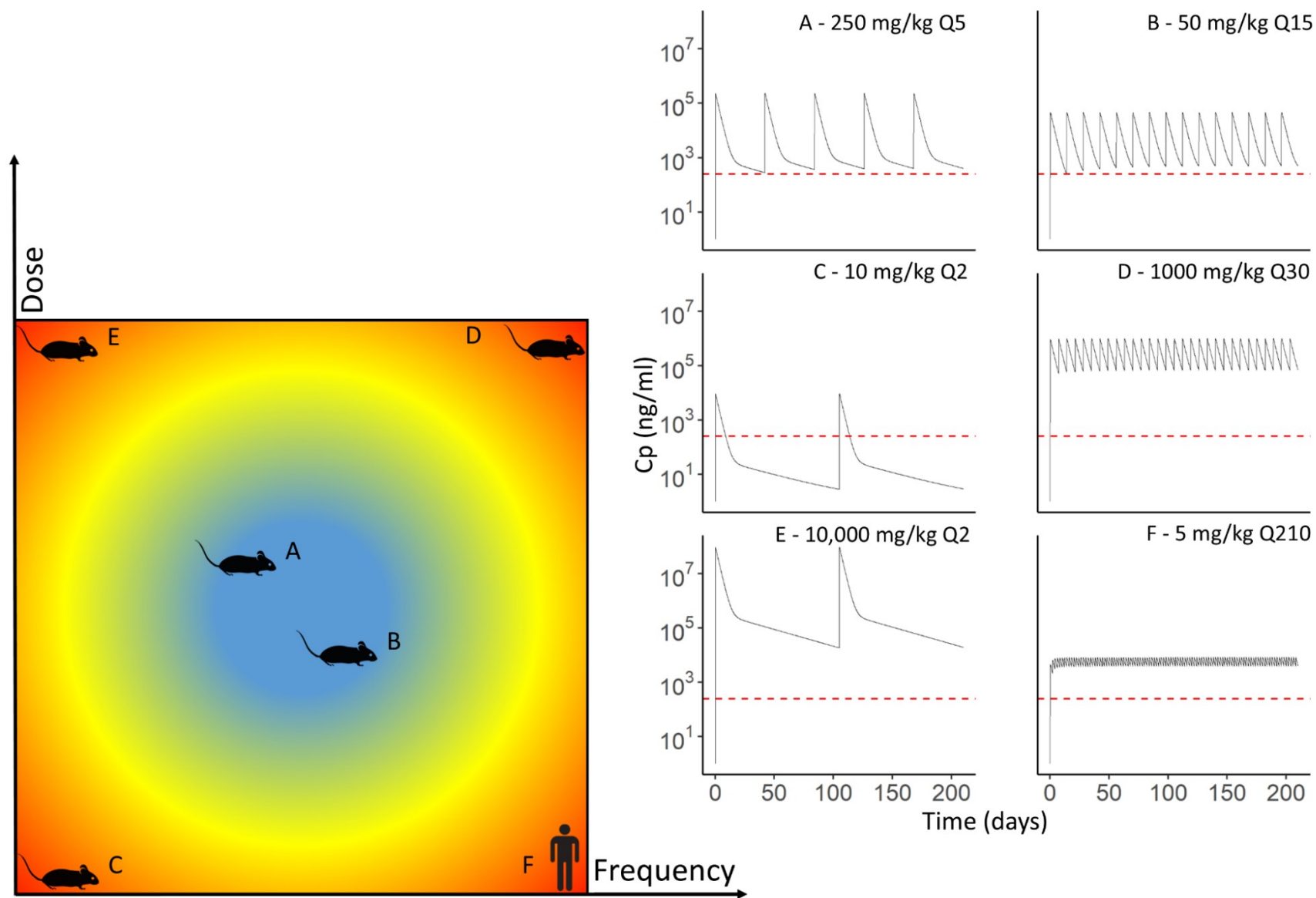


Figure 14. Schematic representation of different scenarios of treatment of Pexx mice with fluralaner. Scenarios are distributed according

to the dose and frequency (Q = number of doses per 210 days) at which the treatment is rendered available. The blue color in the target indicates scenarios in which operational limits are weak, while red color indicates scenarios with high operational constraints. The red dashed line in the plots represents the 196 ng/mL threshold that provides a 100% efficacy. Scenarios A, B C & D were selected among the 3000 scenarios tested in the study, while scenarios E & F were computed specifically to illustrate concepts. The human icon is used to highlight the fact that a high-administration-frequency scenario is associated with limits inherent to human involvement in the treatment.

Tables

Table 23. Summary of experimental groups and their distribution between experiments

Group	Dosage (mg/kg)	Administration	Mice	Experiment
CD1-1	50	Force-fed	34	PK - complete profile - 2 months
Pexx-1	50	Force-fed	37	PK - complete profile - 2 months
CD1-2	50	Bait	10	PK - 2 months
CD1-3	250	Bait	10	PK - 2 months
Pexx-2	250	Bait	11	Efficacy and PK - 2 months
Pexx-3	0	Bait	10	Efficacy
CD1-4	1000	Bait	10	Toxicology - euthanasia 7 days
CD1-5	0	NA	5	Toxicology - euthanasia 7 days
CD1-6	1000	Bait	10	Toxicology - euthanasia 30 days
CD1-7	0	NT	5	Toxicology - euthanasia 30 days

Note: CD1 = *M. musculus* group; NT = no treatment; Pexx = *P. leucopus* group; PK = pharmacokinetics.

Table 24. Pharmacological parameters by experimental groups

Parameters	CD1-1 ^A	CD1-2 ^A	CD1-3 ^A	Pexx-1 ^B	Pexx-2 ^C
	Gavage 50 mg/kg	Bait 50 mg/kg	Bait 250 mg/kg	Gavage 50 mg/kg	Bait 250 mg/kg
C _{max} (ng/mL)	7,357.0	NA	NA	10,070.4	NA
T _{max} (h)	9.4	NA	NA	4.5	NA
AUC _{0→t} (day * ng/mL)	9,242.7	9,252.8	72,801.5	25,112.0	85,243.3
AUC _{0→∞} (day * ng/mL)	9,495.5	9,527.2	73,604.3	25,470.6	85,587.4
k _a -t _{1/2} (h)	6.4	NA	NA	0.8	NA
α-t _{1/2} (h)	6.6	14.7	30.2	38.8	48.0
β-t _{1/2} (day)	17.6	18.2	61.1	NA	NA
MRT (day)	5.3	5.8	3.9	2.4	4.2

Note: AUC_{0→t} = area under the curve from $t = 0$ to the last measurement time point; AUC_{0→∞} = area under the curve from $t = 0$ to infinity; α-t_{1/2} = distribution and elimination half-life; β-t_{1/2} = redistribution and elimination half-life; C_{max} = maximum plasma concentration; k_a-t_{1/2} = absorption half-life; MRT = mean residence time; NA = not applicable; T_{max} = time to maximum plasma concentration.

^AComputed from two-compartment models.

^BComputed from a one-compartment model

^CNon-compartmental parameters.

Extended data

Table I. Comparison of compartment model fit with experimental profiles

Group	Treatment	One compartment		Two compartments		ΔAIC^A
		R ²	AIC	R ²	AIC	
CD1-1	Gavage - 50 mg/kg	0.74	155.50	0.89	140.22	-15.28
Pexx-1	Gavage - 50 mg/kg	0.80	10.58	0.76	13.49	2.91
CD1-2	Bait - 50 mg/kg	0.99	71.82	0.99	53.01	-18.81
CD1-3	Bait - 250 mg/kg	0.99	53.55	0.99	46.91	-6.64

Note: AIC = Akaike information criterion; CD1 = *M. musculus* group; Pexx = *P. leucopus* group

^AOne-compartment AIC value minus two-compartment AIC value; a negative value indicates a best fit of the two-compartment model; variation > 2 indicates a significantly better fit.

Table II. Counts of *I. scapularis* larvae and ratios of larval count between groups Pexx-2 (fluralaner 250 mg/kg) and Pexx-3 (placebo), by time since treatment administration

Day since treatment ^A	Parameters	Pexx-2 - 250 mg/kg			Pexx-3 - placebo			Ratio [CI99] ^F
		Larval counts	n ^D	Mean ^E [range]	Larval counts	n	Mean [range]	
4	Attached ^B	31	9	3.4 [0 - 8]	75	10	7.5 [2 - 13]	0.46 [0.25 - 0.80]
	Living (total) ^C	0 (26)	9	0.0 [0 - 0]	51 (70)	10	5.1 [1 - 9]	0.00 [0.00 - 0.12]
11	Attached	18	9	2.0 [0 - 5]	39	10	3.9 [1 - 5]	0.51 [0.23 - 1.08]
	Living (total)	0 (15)	9	0.0 [0 - 0]	25 (38)	10	2.5 [1 - 4]	0.00 [0.00 - 0.26]
18	Attached	20	9	2.2 [0 - 6]	57	10	5.7 [3 - 9]	0.39 [0.19 - 0.76]
	Living (total)	8 (20)	9	0.9 [0 - 5]	35 (56)	10	3.5 [0 - 6]	0.26 [0.07 - 0.68]
25	Attached	37	9	4.1 [0 - 6]	38	10	3.8 [1 - 7]	1.08 [0.58 - 2.02]
	Living (total)	21 (33)	9	2.1 [0 - 4]	12 (38)	10	1.2 [0 - 3]	1.75 [0.74 - 5.74]
32	Attached	17	8	2.1 [0 - 4]	39	10	3.9 [0 - 7]	0.54 [0.24 - 1.17]
	Living (total)	8 (15)	7	1.1 [0 - 2]	26 (39)	10	2.6 [0 - 6]	0.44 [0.13 - 1.24]
46	Attached	50	7	7.1 [1 - 12]	89	10	8.9 [6 - 11]	0.80 [0.50 - 1.28]
	Living (total)	43 (50)	7	6.1 [1 - 9]	81 (89)	10	8.1 [6 - 10]	0.76 [0.45 - 1.24]
Total	Attached	173	51	3.4 [0 - 12]	337	60	5.6 [0 - 13]	0.60 [0.47 - 0.77]
	Living (total)	80 (159)	50	1.6 [0 - 10]	230 (330)	60	3.8 [0 - 11]	0.42 [0.29 - 0.58]

Note: Experimental infestations were performed 2, 9, 16, 23, 30 and 44 days after treatment administration with 20 larvae; larval counts were performed 48 hours after infestation.

^ANumber of days since treatment administration

^BNumber of attached larvae

^cNumber of attached larvae identified as alive; the number in brackets indicates the number of ticks analyzed to determine if dead or alive; the number is different from the total number of ticks counted because some larvae were damaged when removed from the mice.

^dNumber of mice contributing to the count

^eMean number of larvae per animal (total number of counted larvae divided by the number of animals contributing to the count)

^fRatio and confidence intervals were computed with Poisson exact tests.

Table III. Mean weights of animals and principal organs (SD) for each group included in the toxicology experiment

Group	CD1-4 1000 mg/kg - 7 days	CD1-5 Untreated - 7 days	CD1-6 1000 mg/kg - 30 days	CD1-7 Untreated - 30 days
Animals (g)	27.4 (4.4)	30.0 (2.5)	30.9 (6.1)	29.0 (2.5)
Heart (mg)	155 (30)	180 (6)	167 (29)	158 (26)
Rel. (mg/g)	5.7 (0.6)	6.0 (1.5)	5.6 (1.4)	5.4 (0.6)
Kidney	441 (120)	585 (88)	499 (165)	378 (107)
Rel. (mg/g)	15.9 (2.2)	19.6 (3.0)	15.9 (2.5)	12.9 (2.5)
Liver (mg)	1890 (533)	1888 (117)	1680 (498)	1531 (238)
Rel. (mg/g)	67.9 (9.7)	63.4 (8.2)	53.7 (9.1)	52.8 (6.7)
Spleen (mg)	118 (13)	113 (36)	122 (47)	113 (12)
Rel. (mg/g)	4.4 (3.9, 4.9)	3.7 (1.1)	4.0 (1.2)	3.9 (0.6)

Rel. = relative weight (organ weight/mouse weight)

Note: Differences between groups were tested with the Mann-Whitney Wilcoxon test.

Table IV. Comparison between mean values (range) of biochemistry parameters of groups CD1-4 and CD1-6 and mean normal values (CI95) of CD1 *M. musculus* mice of the same age

Parameters (units)	Sex	Normal values ^A	CD1-4 1000 mg/kg - 7 days	CD1-6 1000 mg/kg - 30 days
ALT (U/L)	F	63 (40, 170)	25 (22, 27)	24 (19, 29)
	M	60 (41, 131)	32 (19, 51)	26 (23, 52)
AST (U/L)	F	154 (67, 381)	85 (70, 96)	118 (85, 138)
	M	135 (55, 352)	164 (73, 352)	79 (52, 184)
BUN (mg/dL)	F	20 (7, 31)	24 (21, 25)	23 (17, 26)
	M	18 (7, 26)	25 (24, 26)	24 (18, 35)
GGT (U/L)	F & M	18	< 5	< 5
Creatinine (μmol/L)	F & M	0.4 (0.2, 0.5)	< 0.27	< 0.27
GLU (mg/dL)	F	193 (85, 281)	182 (169, 191)	145 (110, 169)
	M	206 (129, 329)	184 (155, 209)	148 (124, 184)
TPR (g/dL)	F	6.0 (4.9, 7.3)	4.7 (4.6, 4.8)	4.9 (4.6, 5.2)
	M	6.1 (4.8, 8.7)	4.4 (4.2, 4.6)	4.5 (4.3, 4.7)

ALT = Alanine aminotransferase, AST = Aspartate aminotransferase, BUN = Blood urea nitrogen, F = Female, GGT = Gamma-glutamyl transferase, GLU = Glucose, M = Male, TPR = Total protein refractometer.

^AData provided by Charles River Laboratories.

Table V. Micro-constants computed from compartment model fitted with pharmacokinetic profile of group CD1-1 and Pexx-1

Micro-constant	Effect	CD1-1	Pexx-1^A
k_a (1/d)	$G \rightarrow C_p$	2.61	21.06
k_{12} (1/d)	$C_p \rightarrow P$	0.44	0.02
k_{21} (1/d)	$P \rightarrow C_p$	0.05	0.03
k_{10} (1/d)	$C_p \rightarrow E$	2.06	0.41

C_p = central compartment, E = eliminated, G = gut compartment, P = peripheral compartment.

^ATo calculate *P. leucopus* micro-constants, a two-compartment model was fit on group Pexx-1 data completed passed 10 days with group CD1-1 data.

Discussion générale

Cette thèse a testé l'hypothèse qu'une approche ciblant les réservoirs de *B. burgdorferi*, comme les souris du genre *Peromyscus*, avec des isoxazolines, comme le fluralaner, permettrait de réduire la DIT et conséquemment le risque de ML pour les humains. Pour tester cette hypothèse générale, quatre objectifs spécifiques ont été atteints.

D'abord, dans le premier chapitre, le fluralaner a été montré efficace dans un milieu contrôlé à réduire l'infestation de souris *Peromyscus* par des larves de l'espèce *I. scapularis* à des doses de 12,5 et 50 mg/kg. Cette efficacité à tuer les larves d'*I. scapularis* infestant les souris du genre *Peromyscus* s'est toutefois révélée plus faible que celle observée chez le chien dans la littérature existante en plus d'être de plus courte durée. Une observation qui serait due à une clairance métabolique plus élevée du fluralaner chez les souris.

Ensuite, les chapitres 2 et 3 ont permis respectivement de montrer l'efficacité du déploiement d'appâts oraux de fluralaner à réduire l'infestation des souris du genre *Peromyscus* par les stades immatures d'*I. scapularis* et l'effet du traitement sur le cycle endémique de *B. burgdorferi*. Les résultats de ces chapitres confirment que le traitement d'une population de micromammifères sauvages permet d'altérer la transmission de *B. burgdorferi* dans l'environnement et qu'il a conséquemment le potentiel de réduire la DIT dans un contexte d'intervention en santé publique. Par exemple, une réduction de 45 à 63 % de la DON en absence d'effet significatif sur la NIP entraîne une réduction de 45 à 63 % de la DIN.

Enfin, le chapitre 4 a permis d'obtenir un jeu de scénarios de traitement de souris du genre *Peromyscus* qui les protégeraient pendant toute la durée de la saison d'activités des stades immatures d'*I. scapularis* dans le Nord-est nord-américain. Des doses aussi faibles que 10 mg/kg permettent l'atteinte de cet objectif si rendues disponibles à fréquence appropriée. Ce chapitre a également permis de confirmer l'hypothèse émise au chapitre 1, c.-à-d. qu'une clairance métabolique plus élevée chez les souris explique une durée d'action plus courte que celle documentée chez le chien et le chat.

L'objectif de cette discussion est, dans un premier temps, de faire un tour d'horizon des principaux déterminants de l'efficacité d'une approche ciblant les réservoirs de *B. burgdorferi*. Certaines notions abordées dans les discussions spécifiques à chaque chapitre sont développées plus en détail. Dans un second temps, l'expérience acquise lors de cette thèse sert d'exemple pour mettre en évidence l'importance de définir un cadre de développement pour l'élaboration de ce type d'approches. Je m'appuie sur des cadres existants ou suggérés pour en dessiner les premiers contours. Dans un troisième temps, un aspect du développement moins élaboré dans cette thèse est développé, c.-à-d. les considérations à prendre en compte tout au long des investigations pour favoriser le succès d'une approche lorsqu'elle sera appelée à être utilisée dans un le cadre d'une intervention de santé publique. Dans un dernier temps, de nouvelles perspectives en lien avec les approches ciblant les réservoirs de *B. burgdorferi* sont discutées.

Les déterminants de l'efficacité des interventions

Les déterminants de l'efficacité d'une intervention comprennent un ensemble de facteurs opérationnels et écologiques qui sont susceptibles de modifier l'effet d'un traitement acaricide ciblant les réservoirs de *B. burgdorferi*. Parmi les déterminants opérationnels se trouvent des

facteurs associés aux modalités de déploiement du traitement. Les déterminants écologiques sont liés aux déterminants de la transmission de *B. burgdorferi* dans l'environnement et à comment ces déterminants sont susceptibles de moduler l'effet du traitement sur la DIT.

Les déterminants opérationnels

Dans le cadre de cette thèse, trois déterminants opérationnels ont été inclus dans les investigations soit la densité d'appâts déployés, la fréquence d'administration et la dose de traitement à administrer. Pour étudier le premier déterminant, deux densités d'appâts ont été administrées lors des études de terrain. Les résultats montrent que ces deux densités ont eu le même effet sur la réduction de l'infestation des souris du genre *Peromyscus* par les larves, mais que seule la densité la plus élevée a eu un effet sur l'infestation par les nymphes. Les résultats montrant que la densité d'appât n'a pas eu d'effet différentiel sur la DON sont cohérents dans la mesure où l'effet sur ce paramètre du cycle endémique de *B. burgdorferi* dépend de l'infestation des souris par les larves lors de l'année précédente. L'effet de la densité d'appâts déployée dans l'environnement a été mentionné dans quelques études (Schulze et coll. 2007, Jordan & Schulze 2019). Schulze et collaborateurs (2017) ont notamment étudié cet effet. Les auteurs ont déployé des dispositifs permettant d'administrer du fipronil à des populations de micromammifères sauvages avec des densités différentes entre les dispositifs d'administration sans observer de différence d'effet sur l'infestation des micromammifères (Schulze et coll. 2007).

La question de la densité de dispositif de traitement à déployer est également une question soulevée par les interventions ciblant les hôtes reproducteurs de la tique *I. scapularis* bien qu'elle n'ait pas fait l'objet d'investigations spécifiques. Dans une étude réalisée au

Massachusetts, Grear et collaborateurs (2014) ont observé un effet du traitement des cerfs de virginie sur la densité de nymphes en quête plus faible que dans les autres études décrites dans la littérature. Les auteurs suspectent que l'utilisation de dispositifs séparés par de plus grandes distances, donc à de plus faibles densités, explique cette différence (Grear et coll. 2014).

Dans cette thèse, l'effet de la fréquence et de la dose administrées a été étudié par le biais d'études sur la pharmacocinétique du fluralaner suivi d'une modélisation chez les souris du genre *Peromyscus*. Ces deux déterminants importants de la C_p sont d'importantes balises opérationnelles pour les interventions ciblant les réservoirs de *B. burgdorferi* avec des acaricides. C'est notamment le cas pour les acaricides à action systémique comme les isoxazolines et le fipronil. Pour rappel, contrairement aux produits à toxicité de contact comme la perméthrine qui se diffuse dans la barrière cutanée, les produits à action systémique doivent être ingérés par la tique. Pour ce faire, il faut qu'ils circulent dans le sang de l'animal. L'action des isoxazolines est notamment corrélée avec la C_p du produit dans le sang (Letendre et coll. 2014). Ce fait expose le produit à l'action des principaux organes filtreurs comme le foie et les reins. Il devient donc critique d'étudier en profondeur et de manière exhaustive la pharmacologie des produits qui seront utilisés pour optimiser les devis expérimentaux et, le cas échéant, maximiser les chances de succès.

Dans la littérature actuelle, certains auteurs ont étudié l'efficacité de leur produit à tuer les tiques infestant les souris du genre *Peromyscus* dans des contextes de laboratoire. Dolan et collaborateurs (2004) et Poché et collaborateurs (2020) ont rapporté avoir testé l'efficacité de leur produit dans des conditions similaires à celui du chapitre 1 de cette thèse. Seul Poché et

collaborateurs (2020) ont rapporté une C_p de fipronil qu'ils ont fait correspondre à leurs observations d'efficacité.

Parmi les déterminants qui n'ont pas été investigués se trouvent : 1- la période, ou l'intervalle temporel pendant lequel le traitement a été déployé, et 2- la répartition spatiale des surfaces traitées. Le premier déterminant a peu été étudié bien que l'on retrouve différentes stratégies de déploiement. Par exemple, Dolan et collaborateurs (2004) déployaient leurs stations administrant du fipronil de mai à septembre alors que Schulze et collaborateurs (2017) effectuaient deux déploiements lors de la saison d'activités des nymphes et des larves. Ce fait peut expliquer la différence d'efficacité observée entre l'approche décrite dans cette thèse et les approches décrites précédemment, notamment en ce qui concerne l'effet sur la PIM. Le déploiement d'appâts tôt dans la saison par Dolan et collaborateurs (2004) est susceptible d'avoir tué une proportion importante des nymphes piquant les souris ce qui a causé une diminution de la PIM dès la première année de l'intervention. Dans le cadre de cette thèse, pour cibler le pic d'activités des larves et pour avoir une mesure d'infestation des souris avant le déploiement du traitement, les appâts ont été déployés à partir de juillet, donc après le pic d'activités des nymphes. Cette différence explique probablement que, dans le cadre du chapitre 3 de cette thèse, la diminution de la PIM semble plutôt être une conséquence de la diminution préalable de la DIN.

Dans le cadre des interventions ciblant les micromammifères avec des acaricides, l'importance de l'étendue de la surface traitée a été soulevée par Hinckley et collaborateurs (2021) alors que Linske et collaborateurs (2022) ont testé différents patrons spatiaux de déploiement des appâts. Les premiers ont traité pendant 4 ans des résidences du Connecticut avec des dispositifs

permettant d'administrer du fipronil aux micromammifères sans observer d'effet sur la DIT. Les auteurs ont invoqué l'hypothèse qu'à surface traitée égale, le déploiement sur de petites surfaces séparées plutôt que sur de grandes surfaces contiguës pourrait mitiger l'effet du traitement en offrant un habitat refuge pour la transmission de *B. burgdorferi* (Hinckley et coll. 2021). Cet effet de l'étendue de surface traitée n'a toutefois pas été testé dans la littérature et reste une hypothèse pouvant expliquer l'absence d'effet des interventions ciblant les réservoirs dans certains contextes.

Les déterminants écologiques

Parmi les déterminants écologiques de l'efficacité des approches ciblant les réservoirs de *B. burgdorferi* avec des acaricides se trouvent, entre autres, la composition de la communauté d'hôtes et de réservoirs, la répartition des tiques sur ces hôtes, et l'interaction entre le déploiement du traitement et les populations de micromammifères.

La composition de la communauté d'hôtes et de réservoirs est un déterminant qui fait l'objet d'une littérature abondante. Son effet sur la transmission de *B. burgdorferi* dans l'environnement a notamment fait l'objet d'études de terrain et de modélisations mécanistiques (LoGiudice et coll. 2003, Ogden & Tsao 2009). On note les études de Mather et collaborateurs (1989) et Dumas et collaborateurs (2021) qui ont mis en évidence le rôle majeur des souris du genre *Peromyscus* à partir d'études de terrain. Des résultats que les études de Telford et collaborateurs (1990), Slajchert et collaborateurs (1997), Brunner et collaborateurs (2008) et Sidge et collaborateurs (2021) mitigent. Ces études ont identifié une contribution significative des tamias rayés et de différentes espèces de musaraignes au cycle endémique de *B. burgdorferi*. Il ne semble pas y avoir d'étude concernant l'interaction de ce paramètre avec

l'effet d'un traitement acaricide bien qu'il faille noter la contribution de Tsao et collaborateurs (2004). Ces auteurs ont vacciné des souris du genre *Peromyscus* contre l'antigène OspA et observé une absence d'efficacité de l'intervention sur certains sites expérimentaux. Une composition différente des lignées génétiques de *B. burgdorferi* transmises par les souris y a été identifiée indiquant que le cycle endémique pouvait y être maintenu par d'autres réservoirs (Tsao et coll. 2004). Une situation analogue pourrait moduler l'efficacité d'un traitement acaricide qui cible spécifiquement certaines espèces de micromammifères.

L'adéquation entre les animaux ciblés par l'approche et la distribution des stades immatures d'*I. scapularis* est également un déterminant important de l'efficacité d'un traitement acaricide. Toute espèce dont la probabilité d'être exposé à l'acaricide est nulle constitue un refuge potentiel pour les populations d'*I. scapularis*. La distribution des tiques dans l'habitat, la manière dont les hôtes utilisent leur environnement et la préférence alimentaire d'*I. scapularis* sont, entre autres, des facteurs pouvant affecter la distribution des tiques sur les différentes espèces. S'il a été identifié, par le passé, que les stades immatures d'*I. scapularis* prenant leur repas se distribue principalement sur les souris du genre *Peromyscus*, ces observations pourraient venir du fait que ces deux espèces font l'objet d'une attention particulière lorsque vient le temps d'investiguer l'écologie de la ML (Mather et coll. 1989, Dumas et coll. 2022). De nombreuses larves et nymphes ont été retrouvées chez les oiseaux, chez d'autres espèces de micromammifères ou encore chez certaines espèces de mésomammifères comme les rats laveurs (Telford et coll. 1990, Mannelli et coll. 1993, Slajchert et coll. 1997, Schmidt et coll. 1999, Ogden et coll. 2008, Hamer et coll. 2010, Dumas et coll. 2022). Une alternative prometteuse à l'analyse de la distribution des tiques sur les hôtes est l'analyse des repas

sanguins qu'elles ont consommés. Cette approche est utilisée notamment chez les moustiques pour déterminer leurs rôles dans la transmission des maladies et identifier indirectement le potentiel de réservoir de certaines espèces (Taieb et coll. 2020). Récemment, ce type d'analyses a été reproduit chez les tiques (Goethert et coll. 2021). Les auteurs ont identifié que de 4 à 24 % dans certains contextes les larves pouvaient prendre leur repas sanguin chez le cerf de virginie (Goethert et coll. 2021). Dans le cas de la présente thèse, l'analyse du repas sanguin des nymphes en quête non exposées au traitement aurait pu être une étape supplémentaire pour déterminer quels hôtes contribuent à maintenir la DON.

Cette dernière étape aurait pu également fournir un indicateur indirect de la répartition du traitement dans les populations de micromammifères, principalement les souris du genre *Peromyscus*. Si la fraction des nymphes en quêtes non exposées au traitement ayant pris leur repas sur des *Peromyscus* spp. était restée élevée, ça aurait signifié soit que le traitement ne traite pas une fraction significative de la population de ce réservoir, qu'il ne traite pas quelques individus qui nourrissent une fraction importante des larves de l'espèce *I. scapularis* ou une combinaison de ces deux éléments. La distribution du traitement dans les populations de micromammifères est un élément important du troisième déterminant de l'efficacité des approches ciblant les réservoirs de *B. burgdorferi* avec des acaricides. Tel qu'illustré au chapitre 4, le traitement doit conserver une C_p suffisamment élevée pendant toute la durée de l'activité des stades immatures d'*I. scapularis*. Cet élément est certes dépendant des déterminants opérationnels, mais il peut également être influencé par l'abondance des micromammifères, la distribution spatiale des individus, leur utilisation de l'habitat et des sources d'alimentation alternatives en compétition avec le traitement, et du comportement des animaux. Ces

interactions entre la dynamique des populations et le déploiement d'appâts acaricides n'ont pas été investiguées. L'effet positif du traitement sur les populations de rongeurs a toutefois été discuté, car susceptible d'augmenter l'abondance alimentaire et de favoriser la survie des micromammifères (Ostfeld et coll. 2008, Gaff et coll. 2020). De cet effet indésirable résulterait une densité plus élevée d'hôte et de réservoirs dont l'effet positif sur la DIN mitigerait l'effet du traitement.

L'importance d'un cadre de développement

Pour développer des produits biologiques comme des vaccins ou des médicaments destinés à usage humain, le processus est structuré. Il est notamment découpé en études précliniques et cliniques, puis, ces dernières en phases 1, 2 et 3 (Horien & Yuan 2017). Une fois les étapes du volet expérimental passé, les nouveaux médicaments et produits biologiques font l'objet d'un suivi lors d'une phase dite de pharmacovigilance (Horien & Yuan 2017). Dans le contexte des maladies vectorielles, un cadre de développement des interventions visant le contrôle des vecteurs de la Malaria a été développé par l'Organisation mondiale de la santé (OMS 2013). Actuellement, aucun cadre de développement structuré n'a été proposé par les interventions visant à réduire la DIT dans le contexte de la ML. La démarche de réflexion de cette section de thèse s'inspire des démarches de développement de produits biologiques et pharmacologiques, mais également des cadres de développement proposés par l'OMS (2015) et repris par Bonsall (2021) pour les études s'intéressant aux approches libérant des moustiques stériles pour en réduire l'abondance. Le cadre de développement proposé se compose de 3 étapes de développement : 1- la phase expérimentale préterrain, 2- la phase expérimentale terrain et 3- la phase interventionnelle (Figure 15). Chacune des étapes présentées a été fréquemment mise en

application dans plusieurs études et dans d'autres contextes. Cependant, très peu de programmes de recherche ont appliquée chacune de ces étapes et leur réalisation isolée conduit à une compréhension fragmentaire des causes de succès et d'échec des interventions.

Phase expérimentale préterrain

Lors de cette phase de développement, le principe actif est caractérisé chez l'espèce ciblée dans un contexte où les paramètres sont contrôlés. Les principaux paramètres contrôlés sont le nombre de tiques de l'espèce ciblée auxquelles les animaux sont exposés et la posologie du traitement auquel les animaux doivent être exposés pour obtenir l'effet désiré (Figure 15). La posologie est définie par la quantité d'appât ou dose de principe actif administrée et la fréquence à laquelle cette quantité ou dose est rendue accessible. Cette étape devrait également viser à tester l'innocuité du produit chez l'espèce ciblée.

Lors de cette phase, un des objectifs est de déterminer la posologie optimale du traitement qui permettra de maximiser l'effet de son déploiement dans une population de micromammifères sauvages. Par exemple, Dolan et collaborateurs (2004) ont réalisé ce qu'ils ont appelé un bio-essai sur des souris en laboratoire avant le déploiement de leur intervention sur le terrain pour déterminer la concentration minimale de fipronil qui pourrait tuer $\geq 90\%$ des nymphes jusqu'à 42 jours après son administration. Pour ce faire, les auteurs ont appliqué 3 concentrations différentes de fipronil à 3 groupes de souris, infesté chaque animal avec 10 nymphes et mesuré la proportion de tiques tuées à différents points temporels (Dolan et coll. 2004). Poché et collaborateurs (2020) ont testé l'administration d'un appât de fipronil à des souris du genre *Peromyscus* en les infestant avec 40 larves et déterminant la proportion qui s'est nourri jusqu'à réplétion ou qui a mué avec succès au stade nymphal.

Dans le cadre des approches ciblant les réservoirs avec des vaccins immunisant contre Osp A, des études préterrain ont été réalisées par Tsao et collaborateurs (2001) et Gomes-Solecki et collaborateurs (2006). Ces études ont déterminé expérimentalement la réponse immunitaire de souris aux vaccins et l'efficacité du vaccin à protéger contre l'infection par *B. burgdorferi*. Tsao et collaborateurs (2001) ont, après l'administration d'une dose de vaccin, mesuré une augmentation du titre d'anticorps chez les souris exposées et observées conséquemment une réduction de la transmission de *B. burgdorferi* des souris vaccinées vers les larves d'*I. scapularis*. Gomes-Solecki et collaborateurs (2006) ont également testé la réponse immunitaire de leur vaccin oral chez les souris, mais ont plutôt tester l'inoculation de *B. burgdorferi* chez des souris exposées au vaccin et observées une réduction de la prévalence chez les souris vaccinées lorsque comparé à des souris contrôle. Ces investigations immunologiques et bactériologiques de l'effet des vaccins contre *B. burgdorferi* sont analogues des études pharmacologiques et parasitologiques réalisées lors de la phase d'investigation préterrain des acaricides.

Dans le cadre de cette thèse, l'étude approfondie de la posologie du fluralaner et de sa toxicologie a été réalisée après le début des études expérimentales sur le terrain. Si cette thèse avait suivi le cadre de développement suggéré ici, cette étape aurait dû être réalisée au préalable. Le chapitre 4 argumente notamment sur le caractère fondamental de ces investigations pour maximiser les chances de succès du déploiement sur le terrain. Bien que la transposition des observations en laboratoire sur le terrain puisse comporter son lot de difficultés, l'avantage de connaître au préalable les balises opérationnelles déterminer par la pharmacologie du produit utilisé n'est pas négligeable. Le recours à la modélisation

mécanistique de la PK des acaricides permet de tester un jeu de scénarios qu'il est impossible de tester dans des études expérimentales en considérant les ressources nécessaires.

Éventuellement, il serait possible d'intégrer des données pharmacologiques ou immunologiques à des modèles mécanistiques conçus pour étudier l'écologie des maladies transmises par les tiques comme ceux développés par Mount et collaborateurs (1997a), Ogden & Tsao (2009) et Gaff et collaborateurs (2020). Voordouw et collaborateurs (2013) et Mount et collaborateurs (1997b) ont déjà investigué l'effet de certaines approches visant à réduire la DIT dans l'environnement. Ces modèles se sont toutefois basés sur des observations faites sur le terrain pour tester différentes hypothèses quant à leur effet sur l'écologie de la ML. L'idée de modéliser la PK et l'efficacité des acaricides, et d'intégrer cette modélisation dans des modèles reproduisant l'écologie des maladies vectorielles est d'en arriver avec des prévisions quant à l'efficacité des approches sur le terrain. Le recours à ce type de modèle permet également de déterminer des priorités de recherche et d'identifier les paramètres qui nécessitent des investigations plus approfondies comme suggéré par Sauvé et collaborateurs (2021).

Lors de cette phase d'investigation, les études réalisées en condition dites de quasiterrain sont incluses. Dans cette catégorie, on note l'étude de Poché et collaborateurs (2021, 2023) dans laquelle les souris étaient hébergées en groupe dans des enclos et se voyait offrir un appât contenant du fipronil pour le groupe en présence de compétition alimentaire. Dans leur proposition de cadre de développement pour les approches visant à réduire l'abondance de moustiques en déployant des individus génétiquement modifiés, OMS (2015) et Bonsall (2021) ont également avancé, lors de cette phase d'investigation, l'importance des études de laboratoire réalisées sur des groupes d'individus en cage. Dans le cadre de cette thèse, cette étape

n'a pas été réalisée et elle n'est pas suggérée comme une étape préalable au passage à la phase expérimentale terrain : d'abord, puisque de telles études, même si le contexte d'expérimentation est différent, reprennent les objectifs des études préterrain et, ensuite, parce que les implications d'administrer un traitement acaricide sont différentes de celles de libérer des organismes génétiquement modifiés dans l'environnement tel que traité par l'OMS (2015) et Bonsall (2021).

Phase expérimentale terrain

L'objectif de cette phase est d'investiguer le déploiement de l'approche sur les déterminants principaux du cycle endémique de *B. burgdorferi*. Il est possible d'y distinguer 3 objectifs d'investigation : 1- l'atteinte de la cible désirée, 2- le mécanisme d'action de l'approche et 3- l'effet sur le cycle endémique de la maladie. Pour les approches ciblant les réservoirs de *B. burgdorferi* avec des acaricides, ces 3 éléments consistaient à déterminer 1- comment et par qui le traitement était consommé, 2- s'il réduisait bel et bien l'infestation des animaux traités et 3- s'il produisait un effet sur le cycle endémique de *B. burgdorferi*.

Dans le cadre de cette thèse, l'évaluation qualitative de la consommation du traitement par les micromammifères lorsque les stations étaient remplies d'appâts constitue une évaluation de l'objectif 1. Cette procédure a été documentée au chapitre 2. D'autres études réalisées utilisant la même ou d'autres approches ont également investigué indirectement l'atteinte de la cible en mesurant l'utilisation des stations ou la consommation des appâts (p. ex. Deblinger & Rimmer 1991, Dolan et coll. 2004, Schulze et coll. 2017, Linske et coll. 2022). Certaines études ont poussé plus loin l'investigation de cet objectif en mesurant la présence ou la concentration du

produit utilisé (Dolan et coll. 2017) ou de la réponse immunitaire dans le cas de l'utilisation d'un vaccin (Tsao et coll. 2004, Richer et coll. 2014).

Le second objectif est principalement investigué dans le cadre des approches qui ciblent indirectement la DIT, c.-à-d. qui ciblent les hôtes reproducteurs d'*I. scapularis* et les réservoirs de *B. burgdorferi*. Dans le cadre de cette thèse, le mécanisme d'action a été investigué dans le cadre du chapitre 2. Les approches ciblant les animaux avec des acaricides agissent en tuant les tiques infestant les animaux qui assurent la transmission de l'infection. Ce paramètre est investigué dans de nombreuses études décrivant des approches ciblant les hôtes d'*I. scapularis* et les réservoirs de *B. burgdorferi* (p. ex. Mather et coll. 1988, Dolan et coll. 2004, Schulze et coll. 2017, Keesing et coll. 2022). On note également les études de Rand et collaborateurs (2000) et Solberg et collaborateurs (2003) qui ont respectivement évalué l'efficacité de l'ivermectine et de la perméthrine à réduire l'infestation des cerfs de virginie par des adultes de la tique *I. scapularis*. Les approches utilisant des vaccins contre *B. burgdorferi* ont un effet sur la DIT, par le biais de la TIP, en réduisant le potentielle de réservoirs d'une espèce en particulier ou de la communauté d'hôte, puisqu'immunisée contre l'infection. Le corollaire de la réduction de l'infestation causée par les acaricides est la réduction de la prévalence de réservoirs infectés par *B. burgdorferi* telle que décrite par Tsao et collaborateurs (2004) et Richer et collaborateurs (2014).

Dans le cas des approches ciblant directement les tiques dans l'environnement, bien souvent, seul l'effet sur la DIT est investigué au détriment de l'effet que ses approches peuvent avoir sur l'ensemble de la transmission de *B. burgdorferi* ; notamment parce qu'elles ciblent directement les tiques en quêtes dans l'environnement (Eisen & Dolan 2016). Certaines études ont évalué la

réduction de l'infestation des micromammifères par les nymphes (p. ex. Schulze et coll. 1991, Schulze et coll. 1994), mais n'ont toutefois pas poussé les investigations jusqu'à déterminer l'effet qu'une telle approche pourrait avoir sur la transmission de *B. burgdorferi*, en évaluant notamment l'effet de leur approche sur l'infection des micromammifères par *B. burgdorferi*. Dans le cadre de cette thèse, l'effet de l'approche sur le cycle endémique de *B. burgdorferi* a été mesuré par le biais de la PIM, de la DON et de la NIP. Quelques études ont également investigué l'effet sur la densité d'adultes en quête et la prévalence d'adultes infectés par *B. burgdorferi* (p. ex. Ginsberg 1992, Dolan et coll. 2004) mais les 3 paramètres mesurés dans le cadre de cette thèse restent les plus fréquemment utilisés.

C'est lors de cette phase de développement qu'une approche devrait être utilisée sur plusieurs sites, habitats ou écosystèmes pour assurer la répétabilité de l'effet observé sur différents paramètres du cycle endémique de *B. burgdorferi*. L'objectif sous-jacent est d'investiguer l'interaction de l'approche avec l'environnement où il est déployé et comment ledit environnement en modifie l'effet. Une approche qui produit des résultats cohérents entre différents environnements pourrait être qualifiée de robuste. Des interventions touchant un seul hôte, comme celle développée dans le cadre de cette thèse, par exemple pourraient être moins robuste si appliqué dans une variété d'environnements, c'est-à-dire dans des écosystèmes où les déterminants du cycle endémique de *B. burgdorferi* sont différents des conditions optimales d'efficacité de l'intervention.

Phase interventionnelle

La dernière phase n'a pas été investiguée dans le cadre de cette thèse. Elle fait le lien entre le développement d'une approche visant à réduire la DIT et l'utilisation de ladite approche dans le

cadre d'une intervention de santé publique. Lors de cette phase, les effets de l'approche sur des paramètres épidémiologiques de la maladie chez l'humain, comme le taux d'incidence, le nombre de cas ou l'exposition aux tiques, sont mesurés. C'est à ce moment qu'un modèle final d'intervention peut être proposé. Toutefois, certaines études peuvent proposer un modèle d'intervention sans mesurer de paramètres épidémiologiques, par exemple l'incidence de la maladie, comme l'approche déployée par notre équipe de recherche à Bromont de 2019 à 2022 (Aenishaenslin et coll. 2021). Ces études s'inscrivent dans le cadre de la phase expérimentale terrain dans la mesure où les paramètres évalués relèvent du cycle endémique de *B. burgdorferi*.

À ce jour, en ce qui concerne les approches ciblant les réservoirs de *B. burgdorferi*, seule l'administration de fipronil a été évaluée dans un contexte interventionnel (Hinckley et coll. 2021, Keesing et coll. 2022, Ostfeld et coll. 2023). Ces auteurs ont mesuré l'effet de l'intervention sur l'exposition des humains aux tiques et sur le nombre de cas de ML et n'ont montré aucun effet significatif. Dans le cadre d'autres approches ayant été testées dans un contexte interventionnel, on note l'étude faite par Hinckley et coll. (2016). Les auteurs ont appliqué de la bifenthrine sur certaines portions de terrain résidentiel du Connecticut en 2011 et 2012, et décelé aucun effet sur l'incidence des cas et le taux de contact entre humains et tiques. Au-delà des limites opérationnelles de ces études, l'inefficacité des approches à monter un effet significatif sur l'épidémiologie de la ML pourrait être dû à la nature de la relation entre DIT, exposition des humains aux tiques et occurrence de la maladie. Il existe beaucoup d'inconnus quant à cette relation qui n'est fort probablement pas linéaire, qui pourrait être soumise à des effets de seuil et qui dépend également des comportements humains de la

population incluse dans l'étude (Eisen & Eisen 2016). Une intervention ne saurait être déclarée efficace pour prévenir la ML si elle n'a pas d'effet significatif sur des paramètres épidémiologiques comme le taux de contact entre humains et tiques infectées, et l'incidence de la maladie..

De l'expérimentation à l'intervention

La phase d'investigation interventionnelle est critique pour déterminer comment une approche est appelée à être utilisée dans un contexte de santé publique. Il faut donc la considérer dès les phases expérimentales. Cette section de discussion vise à soulever certains éléments importants à considérer pour proposer un modèle d'intervention.

D'abord, un élément important à considérer pour proposer un modèle d'intervention est le ou les contextes d'exposition au risque de transmission de la ML dans lequel ou lesquels il est prévu d'appliquer l'intervention. Sa livraison et sa mise en œuvre changeront selon un contexte péri-domestique d'exposition ou un contexte récréationnel et occupationnel. Le type de contexte d'exposition changera notamment la surface à traiter et la manière dont le traitement sera déployé dans l'environnement. Dans un contexte péri-domestique, il est plutôt question de traiter des résidences privées ou des parcs de petite dimension situés dans ou à proximité de quartiers résidentiels. Dans un contexte d'exposition récréationnelle, une intervention est plutôt appelée à être déployée en milieu forestier à grande échelle ou en pourtour de sentier. Ces deux contextes sont également liés à des environnements différents qui peuvent moduler l'efficacité d'une approche ; un enjeu qui doit être considéré dès la phase expérimentale terrain. Pour le moment, la littérature rapporte des études, faites aux États-Unis, dont les interventions

ont été testées dans des contextes péri-domestiques (Hinckley et coll. 2016, Keesing et coll. 2022, Ostfeld et coll. 2023).

Ensuite, proposer un modèle d'intervention signifie également réfléchir à sa mise en œuvre. Si les premières phases d'investigation sont réalisées par les équipes de recherche et développement, tester une approche dans un contexte interventionnel nécessite de se rapprocher le plus possible de comment elle sera livrée dans un contexte de santé publique. À ce titre, le modèle développé par Meyers et collaborateurs (2012) fournit un cadre structurant quant à la mise en œuvre d'innovation. Il implique de définir qui aura la charge de livrer l'intervention, c.-à-d. de la déployer (Meyers et coll. 2012a, Meyers et coll. 2012b). Dans le cadre de l'approche décrite dans cette thèse, par exemple, est-ce que chaque citoyen déploiera le traitement sur son terrain, ce rôle sera-t-il attribué à des exterminateurs privés des instances publiques le prendront en charge ? Ce cadre implique également de déterminer comment ceux qui ont la charge de livrer l'intervention seront supportés. L'objectif des équipes de support est d'encapaciter le système de livraison de l'intervention en fournissant des connaissances, des habiletés ou une structure de fonctionnement (Meyers et coll. 2012a). Lors de la phase interventionnelle d'investigation, l'intervention devrait être testée dans le même cadre de livraison que dans un contexte de santé publique, bien qu'à ce stade de développement le support soit fourni par l'équipe de recherche. Procéder ainsi permet également à l'équipe d'évaluer la qualité de la mise en œuvre et d'ajuster l'intervention selon les observations (Figure 15) (Meyers et coll. 2012a).

Enfin, la question du bon contrôle à utiliser en contexte expérimental ou interventionnel est importante pour déterminer l'efficacité d'une intervention. Dans le cadre de cette thèse, le

déploiement d'appât contenant du fluralaner a été comparé à des zones où aucun appât n'était déployé. De nombreuses études testant l'administration d'acaricide aux réservoirs de *B. burgdorferi* ont utilisé ces approches (p. ex. Deblinger & Rimmer 1991, Dolan et coll. 2004, Schulze et coll. 2017). À l'opposé, les études réalisées dans un contexte interventionnel ont comparé le déploiement de l'intervention avec un placebo ; par exemple le déploiement d'appât ne contenant pas le produit acaricide (Hinckley et coll. 2021, Keesing et coll. 2022, Ostfeld et coll. 2023). Cette dernière approche éloigne le contexte des études d'un contexte d'application en santé publique dans la mesure où, dans pour ce dernier, aucun placebo ne sera utilisé. Une intervention comprend l'entièreté des éléments nécessaires à sa mise en œuvre et non seulement le principe actif utilisé pour cibler les hôtes ou les réservoirs. Cette réalité doit être prise en compte tout au long du processus de développement. Par exemple, dans le cadre de cette thèse, l'objectif au chapitre 2 et 3 n'était pas d'isoler l'effet du fluralaner seul, mais de mesurer l'effet du déploiement d'appâts, y compris ses éléments non actifs comme le beurre d'arachide.

Perspectives

En premier lieu, les premières perspectives de recherche soulevées concernent les principes actifs utilisés pour interagir avec le cycle endémique de *B. burgdorferi*. Pour l'instant, les vaccins destinés à protéger les réservoirs contre la bactérie n'auraient pas d'effet sur l'ensemble des agents infectieux transmis par la tique *I. scapularis* contrairement aux acaricides (Eisen 2023). Cependant, les acaricides soulèvent des questionnements quant à la sélection de tiques résistantes et à leur accumulation ou persistance dans l'environnement (Abbas et coll. 2014). Une alternative qui permettrait de contourner certaines limites de ces deux principes actifs

serait d'utiliser un vaccin qui cible directement *I. scapularis*. Le premier vaccin contre les tiques ayant été commercialisé est destiné à usage vétérinaire et visait la réduction de l'infestation du bétail par la tique *Rhipicephalus microplus* (Klouwens et coll. 2016, van Oosterwijk & Wikel 2021). Il s'est également montré efficace contre plusieurs espèces de tiques des genres *Amblyomma*, *Hyaloma* et *Rhipicephalus* (Klouwens et coll. 2016). Ce vaccin réduit l'infestation par les tiques de 74 % en plus de réduire leur fertilité (Klouwens et coll. 2016). Pour l'instant, les vaccins destinés à prévenir l'infestation par les tiques du genre *Ixodes* comme *I. scapularis* ou *I. ricinus* en sont encore au stade expérimental. Les cibles principales sont les protéines de la salive comme les SALPS (Ullmann et coll. 2013, Matias et coll. 2021, Sajid et coll. 2021). Ces vaccins ne montrent toutefois pas d'effet comparable aux acaricides en matière de réduction d'infestation.

En second lieu, les études récentes s'orientent de plus en plus vers l'intégration de différentes approches pour bénéficier des avantages de chacune comme en témoignent les articles publiés par William et collaborateurs (2018a), William et collaborateurs (2018b), Mandli et collaborateurs (2021), Linske et collaborateurs (2022), Keesing et collaborateurs (2022), et Ostfeld et collaborateurs (2023). Les recherches futures concernant le déploiement d'appât de fluralaner devraient s'effectuer dans le cadre d'interventions intégrées. Certains auteurs contestent également la pertinence de tester des approches seules et plaident pour effectuer des recherches étudiant directement l'intégration de différentes approches. S'il apparaît clair que la prévention de la ML est appelée à s'effectuer par l'intégration de différentes approches, réduction de la DIT, adaptation du comportement humain et réduction de l'interface de contact humain-tique, deux motifs recommandent la prudence. D'abord, il faut faire attention à la

question de recherche. Déterminer si une approche a un impact sur le cycle endémique de *B. burgdorferi* n'a pas les mêmes implications que de tester l'effet d'une approche sur le risque de ML. Devrait-on, par exemple, inclure dans un modèle d'intervention intégrée une approche ciblant la DIT qui ne montre aucun effet sur le cycle endémique de *B. burgdorferi*? D'autant plus, si le fait d'avoir un ratio coût-bénéfice élevé est critique pour la mise en œuvre de l'intervention.

Ensuite, les interventions intégrées n'échappent pas non plus à des effets de contingence. Une combinaison d'approches peu produire les effets désirés dans un certain contexte et n'avoir aucun effet dans un autre. Ce qui m'amène, en dernier lieu, à l'importance de structurer des lignes directrices qui permettraient de guider les mesures de prévention à adopter et qui tiendrait compte de l'écologie de la maladie dans un environnement précis, du contexte social dans lequel l'intervention aurait lieu et du ou des contextes d'expositions les plus importants à considérer. Ces lignes directrices viseraient en somme à adapter une intervention à la contingence des déterminants du risque de ML. Pour ce faire, les recherches futures gagneraient à adapter les travaux concernant les analyses multicritères (Aenishaenslin et coll. 2013) et des outils d'aide à la décision (Guillot et coll. 2022) aux approches de prévention de la ML. Elles gagneraient également à s'inspirer des recherches effectuées dans le cadre de la prévention d'autres maladies vectorielles comme la malaria. L'utilisation de réseaux bayésiens pour aider la décision des cliniciens pourrait notamment être adaptée pour supporter l'élaboration de combinaison d'approches à utiliser dans le cadre d'une intervention intégrée dans un contexte de risque spécifique (Taneja et coll. 2021).

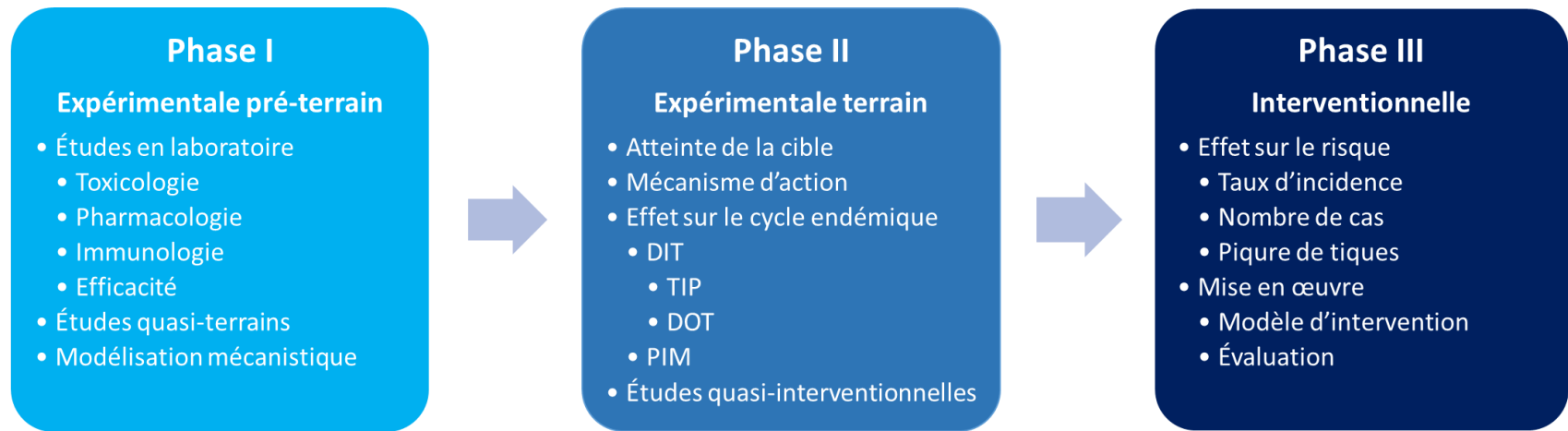


Figure 15. Schéma du cadre de développement des interventions visant à réduire la densité de tiques infectées par *Borrelia burgdorferi* et leurs principales caractéristiques.

Conclusion

Le déploiement d'appâts oraux à des populations de micromammifères sauvages permet d'altérer le cycle endémique de *B. burgdorferi* et a le potentiel de réduire la DIT par le biais d'une réduction de la DOT. Comme cette approche a été testée à petite échelle dans un habitat homogène, son potentiel à réduire la DIT doit être confirmé avec des études à plus grande échelle qui intégrerait des habitats variés, mais aussi d'autres contextes d'application comme le milieu péri-domestique. Les approches pour réduire la DIT sont soumises à des limites associées à l'écologie du cycle endémique de *B. burgdorferi* et à des limites opérationnelles ; le cadre de développement proposé dans cette thèse permettrait de mieux prendre en compte ces dernières pour maximiser les chances de succès lors des études sur le terrain ou lors de la phase d'investigation interventionnelle. L'effet de l'approche doit également être investigué sur des paramètres du risque épidémiologique de la ML comme les contacts entre tiques et les humains, et l'incidence de la maladie, dans la mesure où l'association entre DIT et risque de ML demeure équivoque. Finalement, l'approche développée dans le cadre de cette thèse pourrait également être utilisée dans le cadre d'intervention intégrée conjointement avec des approches ciblant d'autres déterminants de la DIT comme les hôtes reproducteurs de la tique et d'autres déterminants du risque de transmission de la ML comme l'exposition des humains aux tiques.

Références bibliographiques

Abbas, R. Z., Zaman, M. A., Colwell, D. D., Gilleard, J., & Iqbal, Z. (2014). Acaricide resistance in cattle ticks and approaches to its management: the state of play. *Vet Parasitol*, 203(1-2), 6-20.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.03.006>

Adam-Poupart, A., Baron, G., Bergevin, M., Carignan, A., Delorme, L., Gaulin, C., Irace-Cima, A., Judd, L., Kelly, M., Lambert, L., Larrivée, D., Longtin, J., Milord, F., Ogden, N. H., Thivierge, K., & Vibien, A. (2017). Recommandation de prophylaxie postexposition de la maladie de Lyme. Gouvernement du Québec, Québec. 39 pages.

Adrion, E. R., Aucott, J., Lemke, K. W., & Weiner, J. P. (2015). Health care costs, utilization and patterns of care following Lyme disease. *PLoS One*, 10(2), e0116767.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116767>

Aenishaenslin, C., Hongoh, V., Cisse, H. D., Hoen, A. G., Samoura, K., Michel, P., Waaub, J. P., & Belanger, D. (2013). Multi-criteria decision analysis as an innovative approach to managing zoonoses: results from a study on Lyme disease in Canada. *BMC Public Health*, 13, 897. doi: 10.1186/1471-2458-13-897

Aenishaenslin, C., Bouchard, C., Koffi, J. K., Pelcat, Y., & Ogden, N. H. (2016a). Evidence of rapid changes in Lyme disease awareness in Canada. *Ticks Tick Borne Dis*, 7(6), 1067-1074.
<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.09.007>

Aenishaenslin, C., Michel, P., Ravel, A., Gern, L., Waaub, J. P., Milord, F., & Bélanger, D. (2016b). Acceptability of tick control interventions to prevent Lyme disease in Switzerland and Canada: a mixed-method study. *BMC Public Health*, 16, 12. doi: 10.1186/s12889-015-2629-x

Aenishaenslin, C., Pelletier, J., Leighton, P., Rocheleau, J.-P., Bouchard, C., & Potes, L. (2021). Développement et évaluation d'une intervention Une seule santé pour réduire le risque de maladie de Lyme à Bromont - Rapport final. Université de Montréal, Montréal, 55 pages.

Aenishaenslin, C., Charland, K., Bower, N., Perez-Trejo, E., Baron, G., Milord, F., & Bouchard, C. (2022). Behavioral risk factors associated with tick exposure in a Lyme disease high incidence region in Canada. *BMC Public Health*, 22(1), 807. doi: 10.1186/s12889-022-13222-9

Agence de la santé publique du Canada. (2022). Lyme disease surveillance report: preliminary annual edition 2019. Government du Canada, Ottawa. En ligne:

<https://www.canada.ca/content/dam/phac-aspc/documents/services/publications/diseases-conditions/lyme-disease-surveillance-report-2019/LD-REPORT2019-ENG-Final.pdf>

Agence de la santé publique du Canada. (2023). Surveillance of Lyme disease. Government du Canada, Ottawa. En ligne : <https://www.canada.ca/en/public-health/services/diseases/lyme-disease/surveillance-lyme-disease.html>

Agre, F., & Schwartz, R. (1993). The value of early treatment of deer tick bites for the prevention of Lyme Disease. *Am J Dis Child*, 147(9), 945-947. doi: 10.1001/archpedi.1993.02160330035013

Allen, K., Little, S., Petersen, M., Gruntmeir, J., Barrett, A., Herrin, B., Starkey, L., Sun, F., & Guerino, F. (2020). Evaluation of oral fluralaner (Bravecto®) for efficacy against nymphs of

- Amblyomma americanum* and *Rhipicephalus sanguineus (sensu lato)*. *Parasit Vectors*, 13(1), 315. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04179-y>
- Anderson, J. F., & Magnarelli, L. A. (2008). Biology of ticks. *Infect Dis Clin North Am*, 22(2), 195-215. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2007.12.006>
- Baker, C. F., McCall, J. W., McCall, S. D., Drag, M. D., Mitchell, E. B., Chester, S. T., & Larsen, D. (2016). Ability of an oral formulation of afoxolaner to protect dogs from *Borrelia burgdorferi* infection transmitted by wild *Ixodes scapularis* ticks. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 49, 65-69. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2016.09.004>
- Baker, K., Ellenberger, C., Murphy, M., Cavalleri, D., Seewald, W., Drake, J., Nanchen, S., & Hackett, K. (2018). Laboratory evaluations of the 3-month efficacy of oral lotilaner (Credelio™) against experimental infestations of dogs with the Australian paralysis tick, *Ixodes holocyclus*. *Parasit Vectors*, 11(1), 487. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3061-8>
- Ball, R., Shadomy, S. V., Meyer, A., Huber, B. T., Leffell, M. S., Zachary, A., Belotto, M., Hilton, E., Bryant-Genevier, M., Schriefer, M. E., Miller, F. W., & Braun, M. M. (2009). HLA type and immune response to *Borrelia burgdorferi* outer surface protein A in people in whom arthritis developed after Lyme disease vaccination. *Arthritis Rheum*, 60(4), 1179-1186. <https://doi.org/10.1002/art.24418>
- Balmelli, T., & Piffaretti, J. C. (1995). Association between different clinical manifestations of Lyme disease and different species of *Borrelia burgdorferi sensu lato*. *Res Microbiol*, 146(4), 329-340. [https://doi.org/10.1016/0923-2508\(96\)81056-4](https://doi.org/10.1016/0923-2508(96)81056-4)

Baranton, G., Postic, D., Saint Girons, I., Boerlin, P., Piffaretti, J. C., Assous, M., & Grimont, P. A. (1992). Delineation of *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia garinii* sp. nov., and group VS461 associated with Lyme borreliosis. *Int J Syst Bacteriol*, 42(3), 378-383.

<https://doi.org/10.1099/00207713-42-3-378>

Baranton, G., Seinost, G., Theodore, G., Postic, D., & Dykhuizen, D. (2001). Distinct levels of genetic diversity of *Borrelia burgdorferi* are associated with different aspects of pathogenicity. *Res Microbiol*, 152(2), 149-156. [https://doi.org/10.1016/s0923-2508\(01\)01186-x](https://doi.org/10.1016/s0923-2508(01)01186-x)

Barbour, A. G., & Garon, C. F. (1988). The genes encoding major surface proteins of *Borrelia burgdorferi* are located on a plasmid. *Ann N Y Acad Sci*, 539, 144-153.

<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1988.tb31847.x>

Barbour, A. G., & Hayes, S. F. (1986). Biology of *Borrelia* species. *Microbiol Rev*, 50(4), 381-400.

<https://doi.org/10.1128/mr.50.4.381-400.1986>

Baron, G., Perreault, S., Chacra, T. A., & Lemaitre, T. (2022). Maladie de Lyme : état de situation en Estrie. Gouvernement du Québec, Sherbrooke, Québec. En ligne :

https://www.santeestrie.qc.ca/clients/SanteEstrie/Publications/Sante-publique/Bulletin-vision/2022/63_Vision_sante_publique_Maladie_Lyme.pdf

Becskei, C., Geurden, T., Erasmus, H., Cuppens, O., Mahabir, S. P., & Six, R. H. (2016a).

Comparative speed of kill after treatment with Simparica™ (sarolaner) and

Advantix®(imidacloprid + permethrin) against induced infestations of *Dermacentor reticulatus*

on dogs. *Parasites & vectors*, 9, 104. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1377-9>

Becskei, C., Geurden, T., Liebenberg, J., Cuppens, O., Mahabir, S. P., & Six, R. H. (2016b). Comparative speed of kill of oral treatments with Simparica® (sarolaner) and Bravecto® (fluralaner) against induced infestations of *Rhipicephalus sanguineus* on dogs. *Parasit Vectors*, 9, 103. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1376-x>

Bedford, N. L., & Hoekstra, H. E. (2015). *Peromyscus* mice as a model for studying natural variation. *ELife*, 4, e06813. <https://doi.org/10.7554/eLife.06813>

Belozerov, V. N. (2009). Diapause and quiescence as two main kinds of dormancy and their significance in life cycles of mites and ticks (Chelicerata: Arachnida: Acari) - Part 2. *Acarina*, 17 (1), 3-32.

Berglund, J., Eitrem, R., Ornstein, K., Lindberg, A., Ringnér, Å., Elmrud, H., Carlsson, M., Runehagen, A., Svanborg, C., & Norrby, R. (1995). An epidemiologic study of Lyme disease in southern Sweden. *N Engl J Med*, 333(20), 1319-1324.

Berry, K., Bayham, J., Meyer, S. R., & Fenichel, E. P. (2018). The allocation of time and risk of Lyme: a case of ecosystem service income and substitution effects. *Environ Resour Econ (Dordr)*, 70(3), 631-650. <https://doi.org/10.1007/s10640-017-0142-7>

Bertrand, M. R., & Wilson, M. L. (1997). Microhabitat-independent regional differences in survival of unfed *Ixodes scapularis* nymphs (Acari:Ixodidae) in Connecticut. *J Med Entomol*, 34(2), 167-172. <https://doi.org/10.1093/jmedent/34.2.167>

Bonsall, M. B. (2021). Vector control, optimal control, and vector-borne diseases dynamics. dans J. M. Drake, M. B. Bonsall, & M. R. Strand (Eds.), *Population biology of vector-borne diseases*. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/oso/9780198853244.001.0001>

Bouchard, C. (2013). Éco-épidémiologie de la maladie de Lyme dans le Sud-Ouest du Québec : étude des facteurs environnementaux associés à son établissement (Publication Number 18968). Université de Montréal, Saint-Hyacinthe. En ligne : https://papyrus.bib.umontreal.ca/xmlui/bitstream/handle/1866/10507/BOUCHARD_CATHERIN_E_2013_THESE.pdf?sequence=4&isAllowed=y

Bouchard, C., Beauchamp, G., Leighton, P. a., Lindsay, R., Bélanger, D., & Ogden, N. H. (2013). Does high biodiversity reduce the risk of Lyme disease invasion? *Parasites & vectors*, 6, 195. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-195>

Bouchard, C., Leonard, E., Koffi, J. K., Pelcat, Y., Peregrine, A., Chilton, N., Rochon, K., Lysyk, T., Lindsay, L. R., & Ogden, N. H. (2015). The increasing risk of Lyme disease in Canada. *Can Vet J*, 56, 693-699.

Bouchard, C., Aenishaenslin, C., Rees, E. E., Koffi, J. K., Pelcat, Y., Ripoche, M., Milord, F., Lindsay, L. R., Ogden, N. H., & Leighton, P. A. (2018). Integrated social-behavioral and ecological risk maps to prioritize local public health responses to Lyme Disease. *Environ Health Perspect*, 126(4), 047008. <https://doi.org/10.1289/ehp1943>

Bouchard, C., Dibernardo, A., Koffi, J., Wood, H., Leighton, P. A., & Lindsay, L. R. (2019). Increased risk of tick-borne diseases with climate and environmental changes. *Can Commun Dis Rep*, 45(4), 83-89. <https://doi.org/10.14745/ccdr.v45i04a02>

Bouchard, C., Dumas, A., Baron, G., Bowser, N., Leighton, P. A., Lindsay, L. R., Milord, F., Ogden, N. H., & Aenishaenslin, C. (2023). Integrated human behavior and tick risk maps to prioritize

Lyme disease interventions using a 'One Health' approach. *Ticks Tick Borne Dis*, 14(2), 102083.

<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2022.102083>

Bowen, G. S., Schulze, T. L., Hayne, C., & Parkin, W. E. (1984). A focus of Lyme disease in Monmouth County, New Jersey. *Am J Epidemiol*, 120(3), 387-394.

<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a113903>

Brei, B., Brownstein, J. S., George, J. E., Pound, J. M., Miller, J. A., Daniels, T. J., Falco, R. C., Stafford, K. C., 3rd, Schulze, T. L., Mather, T. N., Carroll, J. F., & Fish, D. (2009). Evaluation of the United States Department of Agriculture Northeast area-wide tick control project by meta-analysis. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 9(4), 423-430. <https://doi.org/10.1089/vbz.2008.0150>

Brown, J. E., Miller, T. M., & Machtiger, E. T. (2020). Tick tubes reduce blacklegged tick burdens on white-footed mice in Pennsylvania, USA. *J Appl Entomol*, 144(6), 542-545.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jen.12758>

Brunner, J. L., LoGiudice, K., & Ostfeld, R. S. (2008). Estimating reservoir competence of *Borrelia burgdorferi* hosts: prevalence and infectivity, sensitivity, and specificity. *J Med Entomol*, 45(1), 139-147. [https://doi.org/10.1603/0022-2585\(2008\)45\[139:ercobb\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1603/0022-2585(2008)45[139:ercobb]2.0.co;2)

Burgdorfer, W., Barbour, A. G., Hayes, S. F., Benach, J. L., Grunwaldt, E., & Davis, J. P. (1982). Lyme disease—a tick-borne spirochetosis? *Science*, 216, 1317-1319.

Burgio, F., Meyer, L., & Armstrong, R. (2016). A comparative laboratory trial evaluating the immediate efficacy of fluralaner, afoxolaner, sarolaner and imidacloprid + permethrin against adult *Rhipicephalus sanguineus (sensu lato)* ticks attached to dogs. *Parasites & vectors*, 9, 626.

<https://doi.org/10.1186/s13071-016-1900-z>

Burkot, T. R., Schneider, B. S., Pieniazek, N. J., Happ, C. M., Rutherford, J. S., Slemenda, S. B., Hoffmeister, E., Maupin, G. O., & Zeidner, N. S. (2000). *Babesia microti* and *Borrelia bissettii* transmission by *Ixodes spinipalpis* ticks among prairie voles, *Microtus ochrogaster*, in Colorado. *Parasitology*, 121 Pt 6, 595-599.

Cairns, V., & Godwin, J. (2005). Post-Lyme borreliosis syndrome: a meta-analysis of reported symptoms. *Int J Epidemiol*, 34(6), 1340-1345. <https://doi.org/10.1093/ije/dyi129>

Campbell, G. L., Fritz, C. L., Fish, D., Nowakowski, J., Nadelman, R. B., & Wormser, G. P. (1998). Estimation of the incidence of Lyme disease. *Am J Epidemiol*, 148(10), 1018-1026. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a009568>

Canica, M. M., Nato, F., du Merle, L., Mazie, J. C., Baranton, G., & Postic, D. (1993). Monoclonal antibodies for identification of *Borrelia afzelii* sp. nov. associated with late cutaneous manifestations of Lyme borreliosis. *Scand J Infect Dis*, 25(4), 441-448. <https://doi.org/10.3109/00365549309008525>

Caporale, D. A., Johnson, C. M., & Millard, B. J. (2005). Presence of *Borrelia burgdorferi* (Spirochaetales: Spirochaetaceae) in southern Kettle Moraine State Forest, Wisconsin, and characterization of strain W97F51. *J Med Entomol*, 42(3), 457-472. <https://doi.org/10.1093/jmedent/42.3.457>

Carroll, J. F., Allen, P. C., Hill, D. E., Pound, J. M., Miller, J. A., & George, J. E. (2002). Control of *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* through use of the 4-poster treatment device on deer in Maryland. *Exp Appl Acarol*, 28(1-4), 289-296. <https://doi.org/10.1023/a:1025383408163>

Carroll, J. F., Hill, D. E., Allen, P. C., Young, K. W., Miramontes, E., Kramer, M., Pound, J. M., Miller, J. A., & George, J. E. (2009). The impact of 4-Poster deer self-treatment devices at three locations in Maryland. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 9(4), 407-416.

<https://doi.org/10.1089/vbz.2008.0165>

Casida, J. E. (2015). Golden age of RyR and GABA-R diamide and isoxazoline insecticides: common genesis, serendipity, surprises, selectivity, and safety. *Chem Res Toxicol*, 28(4), 560-566. <https://doi.org/10.1021/tx500520w>

Casida, J. E., & Durkin, K. A. (2015). Novel GABA receptor pesticide targets. *Pestic Biochem Physiol*, 121, 22-30. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.11.006>

Casjens, S., van Vugt, R., Tilly, K., Rosa, P. A., & Stevenson, B. (1997). Homology throughout the multiple 32-kilobase circular plasmids present in Lyme disease spirochetes. *J Bacteriol*, 179(1), 217-227. <https://doi.org/10.1128/jb.179.1.217-227.1997>

Casjens, S. R., Fraser-Liggett, C. M., Mongodin, E. F., Qiu, W.-G., Dunn, J. J., Luft, B. J., & Schutzer, S. E. (2011). Whole genome sequence of an unusual *Borrelia burgdorferi sensu lato* isolate. *J bacteriol*, 193(6), 1489-1490.

Cavalleri, D., Murphy, M., Gorbea, R. L., Seewald, W., Drake, J., & Nanchen, S. (2017). Laboratory evaluations of the immediate and sustained effectiveness of lotilaner (Credelio™) against three common species of ticks affecting dogs in Europe. *Parasit Vectors*, 10(1), 527.

<https://doi.org/10.1186/s13071-017-2477-x>

Cavalleri, D., Murphy, M., Seewald, W., Drake, J., & Nanchen, S. (2018). Laboratory evaluation of the efficacy and speed of kill of lotilaner (Credelio™) against *Ixodes ricinus* ticks on cats. *Parasit Vectors*, 11(1), 413. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2968-4>

Center for Diseases Control and Prevention. (1995). Recommendations for test performance and interpretation from the second National Conference on Serologic Diagnosis of Lyme Disease. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 44(31), 590-591.

Center for Diseases Control and Prevention. (2021a). How many people get Lyme disease? En ligne: <https://www.cdc.gov/lyme/stats/humancases.html>

Center for Diseases Control and Prevention. (2021b). Lyme arthritis. Center for Disease Control and Prevention. En ligne: <https://www.cdc.gov/lyme/treatment/LymeArthritis.html>

Center for Diseases Control and Prevention. (2022a). Lyme Disease. En ligne: [https://www.cdc.gov/ticks/tickbornediseases/lyme.html#:~:text=The%20erythema%20migrans%20\(EM\)%20rash,of%20patients%20with%20Lyme%20disease.](https://www.cdc.gov/ticks/tickbornediseases/lyme.html#:~:text=The%20erythema%20migrans%20(EM)%20rash,of%20patients%20with%20Lyme%20disease.)

Center for Diseases Control and Prevention. (2022b). Lyme disease map. En ligne : <https://www.cdc.gov/lyme/datasurveillance/lyme-disease-maps.html>

Center for Diseases Control and Prevention. (2022c). Surveillance data. En ligne : <https://www.cdc.gov/lyme/datasurveillance/surveillance-data.html>

Chan, M., & Johansson, M. A. (2012). The incubation periods of dengue viruses. *PLoS One*, 7(11), e50972. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050972>

Christova, I., & Komitova, R. (2004). Clinical and epidemiological features of Lyme borreliosis in Bulgaria. *Wien Klin Wochenschr*, 116(1-2), 42-46. <https://doi.org/10.1007/bf03040423>

Chu, C.-Y., Liu, W., Jiang, B.-G., Wang, D.-M., Jiang, W.-J., Zhao, Q.-M., Zhang, P.-H., Wang, Z.-X., Tang, G.-P., & Yang, H. (2008). Novel genospecies of *Borrelia burgdorferi sensu lato* from rodents and ticks in southwestern China. *J Clin Microbiol*, 46(9), 3130-3133.

Clark, K. (2004). *Borrelia* species in host-seeking ticks and small mammals in northern Florida. *J Clin Microbiol*, 42(11), 5076-5086. <https://doi.org/10.1128/jcm.42.11.5076-5086.2004>

Clark, K., Hendricks, A., & Burge, D. (2005). Molecular identification and analysis of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in lizards in the southeastern United States. *Appl Environ Microbiol*, 71(5), 2616-2625. <https://doi.org/10.1128/aem.71.5.2616-2625.2005>

Coipan, E. C., Jahfari, S., Fonville, M., Oei, G. A., Spanjaard, L., Takumi, K., Hovius, J. W., & Sprong, H. (2016). Imbalanced presence of *Borrelia burgdorferi s.l.* multilocus sequence types in clinical manifestations of Lyme borreliosis. *Infect Genet Evol*, 42, 66-76.

<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.04.019>

Collares-Pereira, M., Couceiro, S., Franca, I., Kurtenbach, K., Schäfer, S. M., Vitorino, L., Gonçalves, L., Baptista, S., Vieira, M. L., & Cunha, C. (2004). First isolation of *Borrelia lusitaniae* from a human patient. *J Clin Microbiol*, 42(3), 1316-1318.

<https://doi.org/10.1128/jcm.42.3.1316-1318.2004>

Comstedt, P., Schuler, W., Meinke, A., & Lundberg, U. (2017). The novel Lyme borreliosis vaccine VLA15 shows broad protection against *Borrelia* species expressing six different OspA serotypes.

PLoS One, 12(9), e0184357. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184357>

- Connally, N. P., Durante, A. J., Yousey-Hindes, K. M., Meek, J. I., Nelson, R. S., & Heimer, R. (2009). Peridomestic Lyme disease prevention: results of a population-based case-control study. *Am J Prev Med*, 37(3), 201-206. <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2009.04.026>
- Connally, N. P., Ginsberg, H. S., & Mather, T. N. (2006). Assessing peridomestic entomological factors as predictors for Lyme disease. *J Vector Ecol*, 31(2), 364-370. [https://doi.org/10.3376/1081-1710\(2006\)31\[364:apecap\]2.0.co;2](https://doi.org/10.3376/1081-1710(2006)31[364:apecap]2.0.co;2)
- Costello, C. M., Steere, A. C., Pinkerton, R. E., & Feder, H. M., Jr. (1989). A prospective study of tick bites in an endemic area for Lyme Disease. *J Infect Dis*, 159(1), 136-139. <https://doi.org/10.1093/infdis/159.1.136>
- Cotté, V., Bonnet, S., Cote, M., & Vayssier-Taussat, M. (2010). Prevalence of five pathogenic agents in questing *Ixodes ricinus* ticks from western France. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 10(8), 723-730. <https://doi.org/10.1089/vbz.2009.0066>
- Coyle, B. S., Strickland, G. T., Liang, Y. Y., Peña, C., McCarter, R., & Israel, E. (1996). The public health impact of Lyme disease in Maryland. *J Infect Dis*, 173(5), 1260-1262. <https://doi.org/10.1093/infdis/173.5.1260>
- Craven, R. B., Quan, T. J., Bailey, R. E., Dattwyler, R., Ryan, R. W., Sigal, L. H., Steere, A. C., Sullivan, B., Johnson, B. J., Dennis, D. T., & Gubler, D. J. (1996). Improved serodiagnostic testing for Lyme disease: results of a multicenter serologic evaluation. *Emerg Infect Dis*, 2(2), 136-140. <https://doi.org/10.3201/eid0202.960211>

Cromley, E. K., Cartter, M. L., Mrozinski, R. D., & Ertel, S. H. (1998). Residential setting as a risk factor for Lyme disease in a hyperendemic region. *Am J Epidemiol*, 147(5), 472-477.

<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a009473>

Cupp, E. W. (1991). Biology of ticks. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 21(1), 1-26.

[https://doi.org/10.1016/s0195-5616\(91\)50001-2](https://doi.org/10.1016/s0195-5616(91)50001-2)

Curtis, P. D., Walker, S. M., & Gildrein, D. O. (2011). Shelter Island and Fire Island 4-Poster Deer and tick study - Final report. En ligne: <http://wildlifecontrol.info/wp-content/uploads/2016/04/4-PosterFinalReportpart1.pdf>

Cvejić, D., Schneider, C., Neethling, W., Hellmann, K., Liebenberg, J., & Navarro, C. (2017). The sustained speed of kill of ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) and fleas (*Ctenocephalides felis felis*) on dogs by a spot-on combination of fipronil and permethrin (Effitix®) compared with oral afoxolaner (NexGard®). *Vet Parasitol*, 243, 52-57. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.06.011>

Committee for Medicinal Products for Veterinary Use. (2013). CVMP assessment report for NexGard (EMA/V/C/002729/0000). European Medicine Agency, London, United Kingdom. En ligne: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/nexgard-epar-public-assessment-report_en.pdf

Committee for Medicinal Products for Veterinary Use. (2014). CVMP assessment report for Bravecto (EMA/V/C/002526/0000). European Medicine Agency, London, United Kingdom. En ligne: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/bravecto-epar-public-assessment-report_en.pdf

Committee for Medicinal Products for Veterinary Use. (2017a). CVMP assessment report for Credelio (EMA/V/C/004247/0000). European Medicine Agency, London, United Kingdom. En ligne: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/credelio-epar-public-assessment-report_en.pdf

Committee for Medicinal Products for Veterinary Use. (2017b). Simparica (Sarolaner) European Medicine Agency, London, United Kingdom. En ligne : https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/simparica-epar-summary-public_en.pdf

Committee for Medicinal Products for Veterinary Use. (2021). Bravecto (fluralaner): an overview of Bravecto and why it is authorised in the EU. European Medicines Agency, Amsterdam, The Netherlands. En ligne: https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/bravecto-epar-medicine-overview_en.pdf

Daniels, T. J., Boccia, T. M., Varde, S., Marcus, J., Le, J., Bucher, D. J., Falco, R. C., & Schwartz, I. (1998). Geographic risk for lyme disease and human granulocytic ehrlichiosis in southern New York state. *Appl Environ Microbiol*, 64(12), 4663-4669. <https://doi.org/10.1128/aem.64.12.4663-4669.1998>

Daniels, T. J., Falco, R. C., McHugh, E. E., Vellozzi, J., Boccia, T., Denicola, A. J., Pound, J. M., Miller, J. A., George, J. E., & Fish, D. (2009). Acaricidal treatment of white-tailed deer to control *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in a New York Lyme disease-endemic community. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 9(4), 381-387. <https://doi.org/10.1089/vbz.2008.0197>

Daniels, T. J., Fish, D., & Falco, R. C. (1991). Evaluation of host-targeted acaricide for reducing risk of Lyme disease in southern New York state. *J Med Entomol*, 28, 537-543.

Deblinger, R. D., & Rimmer, D. W. (1991). Efficacy of a permethrin-based acaricide to reduce the abundance of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol*, 28, 708-711.

Deblinger, R. D., Wilson, M. L., Rimmer, D. W., & Spielman, A. (1993). Reduced abundance of immature *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) following incremental removal of deer. *J Med Entomol*, 30(1), 144-150. <https://doi.org/10.1093/jmedent/30.1.144>

Del Fabbro, S. (2015). Fencing and mowing as effective methods for reducing tick abundance on very small, infested plots. *Ticks Tick Borne Dis*, 6(2), 167-172.
<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2014.11.009>

Derdáková, M., Dudiòák, V., Brei, B., Brownstein, J. S., Schwartz, I., & Fish, D. (2004). Interaction and transmission of two *Borrelia burgdorferi sensu stricto* strains in a tick-rodent maintenance system. *Appl Environ Microbiol*, 70(11), 6783-6788. <https://doi.org/10.1128/aem.70.11.6783-6788.2004>

des Vignes, F., Piesman, J., Heffernan, R., Schulze, T. L., Stafford, K. C., 3rd, & Fish, D. (2001). Effect of tick removal on transmission of *Borrelia burgdorferi* and *Ehrlichia phagocytophila* by *Ixodes scapularis* nymphs. *J Infect Dis*, 183(5), 773-778. <https://doi.org/10.1086/318818>

DiCaudo, D., Su, W., Marshall, W., Malawista, S., Barthold, S., & Persing, D. (1994). Acrodermatitis chronica atrophicans in the United States: clinical and histopathologic features of six cases. *Cutis*, 54(2), 81-84.

Dister, S. W., Fish, D., Bros, S. M., Frank, D. H., & Wood, B. L. (1997). Landscape characterization of peridomestic risk for Lyme disease using satellite imagery. *Am J Trop Med Hyg*, 57(6), 687-692. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1997.57.687>

Diuk-Wasser, M. A., Vourc'h, G., Cislo, P., Hoen, A. G., Melton, F., Hamer, S. A., Rowland, M., Cortinas, R., Hickling, G. J., Tsao, J. I., Barbour, A. G., Kitron, U., Piesman, J., & Fish, D. (2010). Field and climate-based model for predicting the density of host-seeking nymphal *Ixodes scapularis*, an important vector of tick-borne disease agents in the eastern United States. *Glob Ecol Biogeogr*, 19(4), 504-514. [https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2010.00526.x](https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2010.00526.x)

Dolan, M. C., Maupin, G. O., Schneider, B. S., Denatale, C., Hamon, N., Cole, C., Zeidner, N. S., & Stafford, K. C., 3rd. (2004). Control of immature *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) on rodent reservoirs of *Borrelia burgdorferi* in a residential community of southeastern Connecticut. *J Med Entomol*, 41(6), 1043-1054. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-41.6.1043>

Dolan, M. C., Schulze, T. L., Jordan, R. A., Schulze, C. J., Ullmann, A. J., Hojgaard, A., Williams, M. A., & Piesman, J. (2017). Evaluation of doxycycline-laden oral bait and topical fipronil delivered in a single bait box to control *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) and reduce *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum* infection in small mammal reservoirs and host-seeking ticks. *J Med Entomol*, 54, 403-410. <https://doi.org/10.1093/jme/tjw194>

Donahue, J. G., Piesman, J., & Spielman, A. (1987). Reservoir competence of white-footed mice for Lyme disease spirochetes. *Am J Trop Med Hyg*, 36(1), 92-96. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1987.36.92>

Drag, M., Saik, J., Harriman, J., & Larsen, D. (2014). Safety evaluation of orally administered afoxolaner in 8-week-old dogs. *Vet Parasitol*, 201(3-4), 198-203. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.02.022>

Dumas, A., Bouchard, C., Dibernardo, A., Drapeau, P., Lindsay, L. R., Ogden, N. H., & Leighton, P. A. (2022). Transmission patterns of tick-borne pathogens among birds and rodents in a forested park in southeastern Canada. *PLoS One*, 17(4), e0266527.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0266527>

Dumont, P., Blair, J., Fourie, J. J., Chester, T. S., & Larsen, D. L. (2014). Evaluation of the efficacy of afoxolaner against two European dog tick species: *Dermacentor reticulatus* and *Ixodes ricinus*. *Vet Parasitol*, 201(3-4), 216-219. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.02.017>

Eisen, L. (2021). Control of ixodid ticks and prevention of tick-borne diseases in the United States: The prospect of a new Lyme disease vaccine and the continuing problem with tick exposure on residential properties. *Ticks Tick Borne Dis*.

<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101649>

Eisen, L. (2023). Rodent-targeted approaches to reduce acarological risk of human exposure to pathogen-infected *Ixodes* ticks. *Ticks Tick Borne Dis*, 14(2), 102119.

<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2023.102119>

Eisen, L., & Dolan, M. C. (2016). Evidence for personal protective measures to reduce human contact with blacklegged ticks and for environmentally based control methods to suppress host-seeking blacklegged ticks and reduce infection with Lyme disease spirochetes in tick vectors and rodent reservoirs. *J Med Entomol*, 53(5), 1063-1092. <https://doi.org/10.1093/jme/tjw103>

Eisen, L., & Eisen, R. J. (2016). Critical evaluation of the linkage between tick-based risk measures and the occurrence of Lyme Disease cases. *J Med Entomol*, 53(5):1050-1062.

<https://doi.org/10.1093/jme/tjw092>

Eisen, L., Eisen, R. J., Mun, J., Salkeld, D. J., & Lane, R. S. (2009). Transmission cycles of *Borrelia burgdorferi* and *B. bissettii* in relation to habitat type in northwestern California. *J Vector Ecol*, 34(1), 81-91. <https://doi.org/10.3376/038.034.0110>

Eisen, L., & Stafford, K. C., III. (2020). Barriers to effective tick management and tick-bite prevention in the United States (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol*, 58(4), 1588-1600. <https://doi.org/10.1093/jme/tjaa079>

Eisen, R. J., Piesman, J., Zielinski-Gutierrez, E., & Eisen, L. (2012). What do we need to know about disease ecology to prevent Lyme disease in the northeastern United States? *J Med Entomol*, 49, 11-22. <https://doi.org/10.1603/ME11138>

Elias, S. P., Smith, R. P., Jr., Morris, S. R., Rand, P. W., Lubelczyk, C., & Lacombe, E. H. (2011). Density of *Ixodes scapularis* ticks on Monhegan Island after complete deer removal: a question of avian importation? *J Vector Ecol*, 36(1), 11-23. <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2011.00136.x>

Falco, R. C., & Fish, D. (1988). Ticks parasitizing humans in a Lyme disease endemic area of southern New York State. *Am J Epidemiol*, 128(5), 1146-1152. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a115057>

Food and Drug Administration. (2019). Animal drug safety communication: FDA alerts pet owners and veterinarians about potential for neurologic adverse events associated with certain flea and tick products. Silver Spring, USA. En ligne: <https://wayback.archive-it.org/7993/20201222192100/https://www.fda.gov/animal-veterinary/cvm-updates/animal->

drug-safety-communication-fda-alerts-pet-owners-and-veterinarians-about-potential-neurologic

Finch, C., Al-Damluji, M. S., Krause, P. J., Nicolai, L., Steeves, T., O'Keefe, C. F., & Diuk-Wasser, M. A. (2014). Integrated assessment of behavioral and environmental risk factors for Lyme disease infection on Block Island, Rhode Island. *PLoS One*, 9(1), e84758.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084758>

Fingerle, V., Schulte-Spechtel, U. C., Ruzic-Sabljić, E., Leonhard, S., Hofmann, H., Weber, K., Pfister, K., Strle, F., & Wilske, B. (2008). Epidemiological aspects and molecular characterization of *Borrelia burgdorferi* s.l. from southern Germany with special respect to the new species *Borrelia spielmanii* sp. nov. *Int J Med Microbiol*, 298(3-4), 279-290.

<https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2007.05.002>

Fisara, P., Guerino, F., & Sun, F. (2018). Investigation of the efficacy of fluralaner spot-on (Bravecto®) against infestations of *Ixodes holocyclus* on cats. *Parasit Vectors*, 11(1), 366.

<https://doi.org/10.1186/s13071-018-2924-3>

Fisara, P., & Webster, M. (2015). A randomized controlled trial of the efficacy of orally administered fluralaner (Bravecto™) against induced *Ixodes holocyclus* (Australian paralysis tick) infestations on dogs. *Parasit Vectors*, 8, 257. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0864-8>

Fleshman, A. C., Foster, E., Maes, S. E., & Eisen, R. J. (2022). Reported county-level distribution of seven human pathogens detected in host-seeking *Ixodes scapularis* and *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae) in the contiguous United States. *J Med Entomol*, 59(4), 1328-1335.

<https://doi.org/10.1093/jme/tjac049>

Fleshman, A. C., Graham, C. B., Maes, S. E., Foster, E., & Eisen, R. J. (2021). Reported county-level distribution of Lyme disease spirochetes, *Borrelia burgdorferi sensu stricto* and *Borrelia mayonii* (Spirochaetales: Spirochaetaceae), in host-seeking *Ixodes scapularis* and *Ixodes pacificus* ticks (Acari: Ixodidae) in the contiguous United States. *J Med Entomol*, 58(3), 1219-1233. doi: 10.1093/jme/tjaa283

Fraser, C. M., Casjens, S., Huang, W. M., Sutton, G. G., Clayton, R., Lathigra, R., White, O., Ketchum, K. A., Dodson, R., Hickey, E. K., Gwinn, M., Dougherty, B., Tomb, J.-F., Fleischmann, R. D., Richardson, D., Peterson, J., Kerlavage, A. R., Quackenbush, J., Salzberg, S., ..., Venter, J. C. (1997). Genomic sequence of a Lyme disease spirochaete, *Borrelia burgdorferi*. *Nature*, 390(6660), 580-586. <https://doi.org/10.1038/37551>

Fukunaga, M., Hamase, A., Okada, K., & Nakao, M. (1996a). *Borrelia tanukii* sp. nov. and *Borrelia turdae* sp. nov. found from ixodid ticks in Japan rapid species identification by 16S rRNA gene-targeted PCR analysis. *Microbiol Immunol*, 40(11), 877-881. doi: 10.1111/j.1348-0421.1996.tb01154.x

Fukunaga, M., Okada, K., Nakao, M., Konishi, T., & Sato, Y. (1996b). Phylogenetic analysis of *Borrelia* species based on flagellin gene sequences and its application for molecular typing of Lyme disease borreliae. *Int J Syst Bacteriol*, 46(4), 898-905. <https://doi.org/10.1099/00207713-46-4-898>

Gaens, D., Rummel, C., Schmidt, M., Hamann, M., & Geyer, J. (2019). Suspected neurological toxicity after oral application of fluralaner (Bravecto®) in a Kooikerhondje dog. *BMC Vet Res*, 15(1), 283. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2016-4>

Gaff, H., Eisen, R. J., Eisen, L., Nadolny, R., Bjork, J., & Monaghan, A. J. (2020). LYMESIM 2.0: An updated simulation of blacklegged tick (Acari: Ixodidae) population dynamics and enzootic transmission of *Borrelia burgdorferi* (Spirochaetales: Spirochaetaceae). *J Med Entomol*, 57(3), 715-727. <https://doi.org/10.1093/jme/tjz252>

Garcia-Monco, J. C., & Benach, J. L. (1995). Lyme neuroborreliosis. *Ann Neurol*, 37(6), 691-702. <https://doi.org/10.1002/ana.410370602>

García-Reynaga, P., Zhao, C., Sarpong, R., & Casida, J. E. (2013). New GABA/glutamate receptor target for [³H]isoxazoline insecticide. *Chem Res Toxicol*, 26(4), 514-516. <https://doi.org/10.1021/tx400055p>

Gassel, M., Wolf, C., Noack, S., Williams, H., & Ilg, T. (2014). The novel isoxazoline ectoparasiticide fluralaner: selective inhibition of arthropod γ -aminobutyric acid- and L-glutamate-gated chloride channels and insecticidal/acaricidal activity. *Insect Biochem Mol Biol*, 45, 111-124. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2013.11.009>

Gatewood, A. G., Liebman, K. A., Vourc'h, G., Bunikis, J., Hamer, S. A., Cortinas, R., Melton, F., Cislo, P., Kitron, U., Tsao, J., Barbour, A. G., Fish, D., & Diuk-Wasser, M. A. (2009). Climate and tick seasonality are predictors of *Borrelia burgdorferi* genotype distribution. *Appl Environ Microbiol*, 75, 2476-2483. <https://doi.org/10.1128/AEM.02633-08>

Ginsberg, H. S. (1992). Ecology and management of ticks and Lyme disease at Fire Island National Seashore and selected eastern national parks. US Department of the Interior, National Park Service, Washington, USA. En ligne : https://play.google.com/books/reader?id=wSIFAAAAYAAJ&pg=GBS.PA40&hl=fr_CA

Ginsberg, H. S. (1993). Transmission risk of Lyme disease and implications for tick management. *Am J Epidemiol*, 138(1), 65-73. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a116778>

Ginsberg, H. S., Bargar, T. A., Hladik, M. L., & Lubelczyk, C. (2017). Management of arthropod pathogen vectors in North America: minimizing adverse effects on pollinators. *J Med Entomol*, 54(6), 1463-1475. <https://doi.org/10.1093/jme/tjx146>

Glatz, M., Resinger, A., Semmelweis, K., Ambros-Rudolph, C. M., & Müllegger, R. R. (2015). Clinical spectrum of skin manifestations of Lyme borreliosis in 204 children in Austria. *Acta Derm Venereol*, 95(5), 565-571. <https://doi.org/10.2340/00015555-2000>

Gleim, E. R., Conner, L. M., Berghaus, R. D., Levin, M. L., Zemtsova, G. E., & Yabsley, M. J. (2014). The phenology of ticks and the effects of long-term prescribed burning on tick population dynamics in southwestern Georgia and northwestern Florida. *PLoS One*, 9(11), e112174. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112174>

Goddard, J. (1992). Ecological studies of adult *Ixodes scapularis* in Central Mississippi: questing activity in relation to time of year, vegetation type, and meteorologic conditions. *J Med Entomol*, 29(3), 501-506. <https://doi.org/10.1093/jmedent/29.3.501>

Goethert, H. K., Mather, T. N., Buchthal, J., & Telford, S. R., 3rd. (2021). Retrotransposon-based blood meal analysis of nymphal deer ticks demonstrates spatiotemporal diversity of *Borrelia burgdorferi* and *Babesia microti* reservoirs. *Appl Environ Microbiol*, 87(2). <https://doi.org/10.1128/aem.02370-20>

Gomes-Solecki, M. (2014). Blocking pathogen transmission at the source: reservoir targeted OspA-based vaccines against *Borrelia burgdorferi*. *Front Cell Infect Microbiol*, 4, 136.

<https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00136>

Gomes-Solecki, M. J., Brisson, D. R., & Dattwyler, R. J. (2006). Oral vaccine that breaks the transmission cycle of the Lyme disease spirochete can be delivered via bait. *Vaccine*, 24(20),

4440-4449. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.08.089>

Gray, J. S., Kahl, O., Lane, R. S., Levin, M. L., & Tsao, J. I. (2016). Diapause in ticks of the medically important *Ixodes ricinus* species complex. *Ticks Tick Borne Dis*, 7(5), 992-1003.

<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.05.006>

Grear, J. S., Koethe, R., Hoskins, B., Hillger, R., Dapsis, L., & Pongsiri, M. (2014). The effectiveness of permethrin-treated deer stations for control of the Lyme disease vector *Ixodes scapularis* on Cape Cod and the islands: a five-year experiment. *Parasit Vectors*, 7, 292.

<https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-292>

Grego, E., Bertolotti, L., Peletto, S., Amore, G., Tomassone, L., & Mannelli, A. (2007). *Borrelia lusitaniae* OspA gene heterogeneity in Mediterranean basin area. *J Mol Evol*, 65(5), 512-518.

<https://doi.org/10.1007/s00239-007-9029-5>

Gross, D. M., Forsthuber, T., Tary-Lehmann, M., Etling, C., Ito, K., Nagy, Z. A., Field, J. A., Steere, A. C., & Huber, B. T. (1998). Identification of LFA-1 as a candidate autoantigen in treatment-resistant Lyme arthritis. *Science*, 281(5377), 703-706.

<https://doi.org/10.1126/science.281.5377.703>

Guerra, M., Walker, E., Jones, C., Paskewitz, S., Cortinas, M. R., Stancil, A., Beck, L., Bobo, M., & Kitron, U. (2002). Predicting the risk of Lyme disease: habitat suitability for *Ixodes scapularis* in the north central United States. *Emerg Infect Dis*, 8(3), 289-297.

<https://doi.org/10.3201/eid0803.010166>

Guillot, C., Bouchard, C., Aenishaenslin, C., Berthiaume, P., Milord, F., & Leighton, P. A. (2022). Criteria for selecting sentinel unit locations in a surveillance system for vector-borne disease: A decision tool. *Front Public Health*, 10, 1003949. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.1003949>

Halos, L., Lebon, W., Chalvet-Monfray, K., Larsen, D., & Beugnet, F. (2014). Immediate efficacy and persistent speed of kill of a novel oral formulation of afoxolaner (NexGard™) against induced infestations with *Ixodes ricinus* ticks. *Parasit Vectors*, 7, 452.

<https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-452>

Hamer, S. A., Tsao, J. I., Walker, E. D., & Hickling, G. J. (2010). Invasion of the Lyme disease vector *Ixodes scapularis*: implications for *Borrelia burgdorferi* endemicity. *Ecohealth*, 7(1), 47-63.

<https://doi.org/10.1007/s10393-010-0287-0>

Hanincová, K., Ogden, N. H., Diuk-Wasser, M., Pappas, C. J., Iyer, R., Fish, D., Schwartz, I., & Kurtenbach, K. (2008). Fitness variation of *Borrelia burgdorferi sensu stricto* strains in mice. *Appl Environ Microbiol*, 74(1), 153-157. <https://doi.org/10.1128/aem.01567-07>

Hanrahan, J. P., Benach, J. L., Coleman, J. L., Bosler, E. M., Morse, D. L., Cameron, D. J., Edelman, R., & Kaslow, R. A. (1984). Incidence and cumulative frequency of endemic Lyme disease in a community. *J Infect Dis*, 150(4), 489-496. <https://doi.org/10.1093/infdis/150.4.489>

Hanson, M. S., & Edelman, R. (2003). Progress and controversy surrounding vaccines against Lyme disease. *Expert Rev Vaccines*, 2(5), 683-703. <https://doi.org/10.1586/14760584.2.5.683>

Hao, Q., Hou, X., Geng, Z., & Wan, K. (2011). Distribution of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in China. *J Clin Microbiol*, 49(2), 647-650. <https://doi.org/10.1128/jcm.00725-10>

Harms, M. G., Hofhuis, A., Sprong, H., Bennema, S. C., Ferreira, J. A., Fonville, M., Docters van Leeuwen, A., Assendelft, W. J. J., Van Weert, H., Van Pelt, W., & Van den Wijngaard, C. C. (2021). A single dose of doxycycline after an *Ixodes ricinus* tick bite to prevent Lyme borreliosis: An open-label randomized controlled trial. *J Infect*, 82(1), 98-104. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.06.032>

Harymann, M., Ogden, N., Lindsay, R., Lawless, V., Deilgat, M., & Sternthal, S. (2014). Summary of the Public Health Agency of Canada's action plan on Lyme Disease. *Can Commun Dis Rep*, 40(5), 88-90. <https://doi.org/10.14745/ccdr.v40i05a03>

Hinckley, A. F., Meek, J. I., Ray, J. A., Niesobecki, S. A., Connally, N. P., Feldman, K. A., Jones, E. H., Backenson, P. B., White, J. L., Lukacik, G., Kay, A. B., Miranda, W. P., & Mead, P. S. (2016). Effectiveness of residential acaricides to prevent Lyme and other tick-borne diseases in Humans. *J Infect Dis*, 214(2), 182-188. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv775>

Hinckley, A. F., Niesobecki, S. A., Connally, N. P., Hook, S. A., Biggerstaff, B. J., Horiuchi, K. A., Hojgaard, A., Mead, P. S., & Meek, J. I. (2021). Prevention of Lyme and other tickborne diseases using a rodent-targeted approach: a randomized controlled trial in Connecticut. *Zoonoses Public Health*. <https://doi.org/10.1111/zph.12844>

Honsberger, N. A., Six, R. H., Heinz, T. J., Weber, A., Mahabir, S. P., & Berg, T. C. (2016). Efficacy of sarolaner in the prevention of *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum* transmission from infected *Ixodes scapularis* to dogs. *Vet Parasitol*, 222, 67-72.

<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.02.010>

Horien, C., & Yuan, P. (2017). Drug Development. *Yale J Biol Med*, 90(1), 1-3.

Hornbostel, V. L., Ostfeld, R. S., & Benjamin, M. A. (2005). Effectiveness of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) against *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) engorging on *Peromnyscus leucopus*. *J Vector Ecol*, 30(1), 91-101.

Iliopoulou, B. P., & Huber, B. T. (2010). Infectious arthritis and immune dysregulation: lessons from Lyme disease. *Curr Opin in Rheumatol*, 22(4), 451-5 . https://journals.lww.com/co-rheumatology/Fulltext/2010/07000/Infectious_arthritis_and_immune_dysregulation_.15.aspx

Johnson, R. C., Schmid, G. P., Hyde, F. W., Steigerwalt, A. G., & Brenner, D. J. (1984). *Borrelia burgdorferi* sp. nov.: etiologic agent of Lyme disease. *Int J Syst Evol Microbiol*, 34(4), 496-497.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1099/00207713-34-4-496>

Johnson, T. L., Graham, C. B., Hojgaard, A., Breuner, N. E., Maes, S. E., Boegler, K. A., Replogle, A. J., Kingry, L. C., Petersen, J. M., Eisen, L., & Eisen, R. J. (2017). Isolation of the Lyme disease spirochete *Borrelia mayonii* from naturally infected rodents in Minnesota. *J Med Entomol*, 54(4), 1088-1092. <https://doi.org/10.1093/jme/tjx062>

Johnson, T. L., Graham, C. B., Maes, S. E., Hojgaard, A., Fleshman, A., Boegler, K. A., Delory, M. J., Slater, K. S., Karpathy, S. E., Bjork, J. K., Neitzel, D. F., Schiffman, E. K., & Eisen, R. J. (2018). Prevalence and distribution of seven human pathogens in host-seeking *Ixodes scapularis* (Acari:

Ixodidae) nymphs in Minnesota, USA. *Ticks Tick Borne Dis*, 9(6), 1499-1507.

<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.07.009>

Jones, K. E., Patel, N. G., Levy, M. A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J. L., & Daszak, P. (2008). Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, 451(7181), 990-993.

<https://doi.org/10.1038/nature06536>

Jordan, R. A., & Schulze, T. L. (2019). Ability of two commercially available host-targeted technologies to reduce abundance of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in a residential landscape. *J Med Entomol*, 56(4), 1095-1101. <https://doi.org/10.1093/jme/tjz046>

Jordan, R. A., Schulze, T. L., & Jahn, M. B. (2007). Effects of reduced deer density on the abundance of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) and Lyme disease incidence in a northern New Jersey endemic area. *J Med Entomol*, 44(5), 752-757. [https://doi.org/10.1603/0022-2585\(2007\)44\[752:eorddo\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1603/0022-2585(2007)44[752:eorddo]2.0.co;2)

Kahl, O., Gern, L., Eisen, L., & Lane, R. (2002). Ecological research on *Borrelia burgdorferi sensu lato*: terminology and some methodological pitfalls. CABI International.

<https://doi.org/10.1079/9780851996325.0029>

Kawabata, H., Masuzawa, T., & Yanagihara, Y. (1993). Genomic analysis of *Borrelia japonica* sp. nov. isolated from *Ixodes ovatus* in Japan. *Microbiol Immunol*, 37(11), 843-848.

<https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.1993.tb01714.x>

Keesing, F., Mowry, S., Bremer, W., Duerr, S., Evans, A., Fischhoff, I., Hinckley, A., Hook, S., Keating, F., Pendleton, J., Pfister, A., Teator, M., & Ostfeld, R. (2022). Effects of tick-control interventions on tick abundance, human encounters with ticks, and incidence of tick-borne

diseases in residential neighborhoods, New York, USA. *Emerg Infect Dis*, 28(5), 957.

<https://doi.org/10.3201/eid2805.211146>

Kilp, S., Ramirez, D., Allan, M. J., & Roepke, R. K. (2016). Comparative pharmacokinetics of fluralaner in dogs and cats following single topical or intravenous administration. *Parasit Vectors*, 9(1), 296. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1564-8>

Kilp, S., Ramirez, D., Allan, M. J., Roepke, R. K., & Nuernberger, M. C. (2014). Pharmacokinetics of fluralaner in dogs following a single oral or intravenous administration. *Parasit Vectors*, 7, 85. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-85>

Kilpatrick, A. M., Dobson, A. D. M., Levi, T., Salkeld, D. J., Swei, A., Ginsberg, H. S., Kjemtrup, A., Padgett, K. A., Jensen, P. M., Fish, D., Ogden, N. H., & Diuk-Wasser, M. A. (2017). Lyme disease ecology in a changing world: consensus, uncertainty and critical gaps for improving control. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 372(1722). <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0117>

Kilpatrick, H. J., LaBonte, A. M., & Stafford, K. C. (2014). The relationship between deer density, tick abundance, and human cases of Lyme disease in a residential community. *J Med Entomol*, 51(4), 777-784. <https://doi.org/10.1603/me13232>

Kim, T. K., Tirloni, L., Pinto, A. F., Moresco, J., Yates, J. R., 3rd, da Silva Vaz, I., Jr., & Mulenga, A. (2016). *Ixodes scapularis* tick saliva proteins sequentially secreted every 24 h during blood feeding. *PLoS Negl Trop Dis*, 10(1), e0004323. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004323>

Kisling, L. A., & Das, J. M. (2022). *Prevention Strategies*. StatPearls Publishing LLC. En ligne: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537222/>

Kitron, U., & Kazmierczak, J. J. (1997). Spatial analysis of the distribution of Lyme disease in Wisconsin. *Am J Epidemiol*, 145(6), 558-566.

<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a009145>

Klein, J. D., Eppes, S. C., & Hunt, P. (1996). Environmental and life-style risk factors for Lyme disease in children. *Clin Pediatr (Phila)*, 35(7), 359-363.

<https://doi.org/10.1177/000992289603500705>

Klouwens, M. J., Trentelman, J. J., & Hovius, J. W. R. (2016). 21. Anti-tick vaccines to prevent tick-borne diseases: an overview and a glance at the future. In *Ecology and prevention of Lyme borreliosis* (pp. 295-316). https://doi.org/10.3920/978-90-8686-838-4_21

Krantz, G. W. (1971). *A manual of acarology* (1 ed.).

Kugeler, K. J., Jordan, R. A., Schulze, T. L., Griffith, K. S., & Mead, P. S. (2016). Will culling white-tailed deer prevent Lyme Disease? *Zoonoses Public Health*, 63(5), 337-345.

<https://doi.org/10.1111/zph.12245>

Kugeler, K. J., Mead, P. S., Schwartz, A. M., & Hinckley, A. F. (2022). Changing trends in age and sex distributions of Lyme Disease-United States, 1992-2016. *Public Health Rep*, 137(4), 655-659.

<https://doi.org/10.1177/003335492111026777>

Kugeler, K. J., Schwartz, A. M., Delorey, M. J., Mead, P. S., & Hinckley, A. F. (2021). Estimating the frequency of Lyme Disease diagnoses, United States, 2010-2018. *Emerg Infect Dis*, 27(2), 616-619. <https://doi.org/10.3201/eid2702.202731>

Kunkle, B., Daly, S., Dumont, P., Drag, M., & Larsen, D. (2014). Assessment of the efficacy of orally administered afoxolaner against *Rhipicephalus sanguineus sensu lato*. *Vet Parasitol*, 201(3-4), 226-228. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.02.018>

Kuntz, E. A., & Kammanadiminti, S. (2017). Safety evaluation of lotilaner in dogs after oral administration as flavoured chewable tablets (Credelio). *Parasit Vectors*, 10(1), 538. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2468-y>

Kuntz, E. A., & Kammanadiminti, S. (2018). Safety of lotilaner flavoured chewable tablets (Credelio™) after oral administration in cats. *Parasit Vectors*, 11(1), 409. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2969-3>

Kurtenbach, K., Hanincová, K., Tsao, J. I., Margos, G., Fish, D., & Ogden, N. H. (2006). Fundamental processes in the evolutionary ecology of Lyme borreliosis. *Nat Rev Microbiol*, 4, 660-669. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1475>

Lane, R. S., Manweiler, S. A., Stubbs, H. A., Lennette, E. T., Madigan, J. E., & Lavoie, P. E. (1992). Risk factors for Lyme disease in a small rural community in northern California. *Am J Epidemiol*, 136(11), 1358-1368. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a116448>

Lantos, P. M., Branda, J. A., Boggan, J. C., Chudgar, S. M., Wilson, E. A., Ruffin, F., Fowler, V., Auwaerter, P. G., & Nigrovic, L. E. (2015). Poor Positive Predictive Value of Lyme Disease Serologic Testing in an Area of Low Disease Incidence. *Clin Infect Dis*, 61(9), 1374-1380. <https://doi.org/10.1093/cid/civ584>

Leeflang, M. M. G., Ang, C. W., Berkhout, J., Bijlmer, H. A., Van Bortel, W., Brandenburg, A. H., Van Burgel, N. D., Van Dam, A. P., Dessau, R. B., Fingerle, V., Hovius, J. W. R., Jaulhac, B., Meijer,

B., Van Pelt, W., Schellekens, J. F. P., Spijker, R., Stelma, F. F., Stanek, G., Verduyn-Lunel, F., . . . Sprong, H. (2016). The diagnostic accuracy of serological tests for Lyme borreliosis in Europe: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infectious Diseases*, 16(1), 140.

<https://doi.org/10.1186/s12879-016-1468-4>

Le Fleche, A., Postic, D., Girardet, K., Peter, O., & Baranton, G. (1997). Characterization of *Borrelia lusitaniae* sp. nov. by 16S ribosomal DNA sequence analysis. *Int J Syst Evol Microbiol*, 47(4), 921-925. doi: 10.1099/00207713-47-4-921

Leighton, P. A., Koffi, J. K., Pelcat, Y., Lindsay, L. R., & Ogden, N. H. (2012). Predicting the speed of tick invasion: an empirical model of range expansion for the Lyme disease vector *Ixodes scapularis* in Canada. *Journal of Applied Ecology*, 49, 457-464. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2012.02112.x>

Leighton, P. A., Lindsay, L. R., & Ogden, N. H. (2022). Climate and the emergence of tick-borne disease in Canada. In P. Nuttall (Ed.), *Climate, ticks and disease*. CABI international.

<https://doi.org/10.1079/9781789249637.0000>

Letendre, L., Huang, R., Kvaternick, V., Harriman, J., Drag, M., & Soll, M. (2014). The intravenous and oral pharmacokinetics of afoxolaner used as a monthly chewable antiparasitic for dogs. *Vet Parasitol*, 201(3-4), 190-197. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.02.021>

Levine, J. F., Wilson, M. L., & Spielman, A. (1985). Mice as reservoirs of the Lyme disease spirochete. *Am J Trop Med Hyg*, 34, 355-360.

<https://doi.org/https://doi.org/10.4269/ajtmh.1985.34.355>

Lewis, J., & Lloyd, V. K. (2019). Identification of *Borrelia bissettii* in *Ixodes scapularis* ticks from New Brunswick, Canada. *Can J Microbiol*, 65(2), 155-161. <https://doi.org/10.1139/cjm-2018-0376>

Ley, C., Olshen, E. M., & Reingold, A. L. (1995). Case-control study of risk factors for incident Lyme disease in California. *Am J Epidemiol*, 142(9 Suppl), S39-47. https://doi.org/10.1093/aje/142.supplement_9.s39

Lin, T., Oliver, J. H., Jr., & Gao, L. (2003). Comparative analysis of *Borrelia* isolates from southeastern USA based on randomly amplified polymorphic DNA fingerprint and 16S ribosomal gene sequence analyses. *FEMS Microbiol Lett*, 228(2), 249-257. [https://doi.org/10.1016/s0378-1097\(03\)00763-8](https://doi.org/10.1016/s0378-1097(03)00763-8)

Lindquist, E. E., Galloway, T. D., Artsob, H., Lindsay, L. R., Dredot, M., Wood, H., & Robbins, R. G. (2016). A handbook to the ticks of Canada. <https://doi.org/10.3752/9780968932186>

Lindsay, L. R., Barker, I. K., Surgeoner, G. A., McEwen, S. A., & Campbell, G. D. (1997). Duration of *Borrelia burgdorferi* infectivity in white-footed mice for the tick vector *Ixodes scapularis* under laboratory and field conditions in Ontario. *J Wildl Dis*, 33(4), 766-775. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-33.4.766>

Lindsay, L. R., Barker, I. K., Surgeoner, G. A., McEwen, S. A., Gillespie, T. J., & Addison, E. M. (1998). Survival and development of the different life stages of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) held within four habitats on Long Point, Ontario, Canada. *J Med Entomol*, 35(3), 189-199. <https://doi.org/10.1093/jmedent/35.3.189>

Lindsay, L. R., Bernat, K., & DiBernardo, A. (2014). Laboratory diagnostics for Lyme disease. *Can Commun Dis Rep*, 40(11), 209-217. <https://doi.org/10.14745/ccdr.v40i11a02>

Lindsay, L. R., Mathison, S. W., Barker, I. K., McEwen, S. A., Gillespie, T. J., & Surgeoner, G. A. (1999a). Microclimate and habitat in relation to *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) populations on Long Point, Ontario, Canada. *J Med Entomol*, 36(3), 255-262.

<https://doi.org/10.1093/jmedent/36.3.255>

Lindsay, L. R., Mathison, S. W., Barker, I. K., McEwen, S. A., & Surgeoner, G. A. (1999b).

Abundance of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) larvae and nymphs in relation to host density and habitat on Long Point, Ontario. *J Med Entomol*, 36(3), 243-254.

<https://doi.org/10.1093/jmedent/36.3.243>

Linske, M. A., Williams, S. C., Stafford, K. C., III, & Li, A. Y. (2022). Integrated Tick Management in Guilford, CT: fipronil-based rodent-targeted bait box deployment configuration and *Peromyscus leucopus* (Rodentia: Cricetidae) abundance drive reduction in tick burdens. *J Med Entomol*, 59(2), 591-597. <https://doi.org/10.1093/jme/tjab200>

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. doi: 10.1073/pnas.0233733100

Lyme disease vaccine. (1999). *Med Lett Drugs Ther*, 41(1049), 29-30.

Lyme Disease Diagnostics Working Group. (2020). Modified two-tiered testing algorithm for Lyme disease serology: the Canadian context. *Can Commun Dis Rep*, 46(5), 125-131. <https://doi.org/10.14745/ccdr.v46i05a05>

Mac, S., Evans, G. A., Patel, S. N., Pullenayegum, E. M., & Sander, B. (2021). Estimating the population health burden of Lyme disease in Ontario, Canada: a microsimulation modelling approach. *CMAJ Open*, 9(4), E1005-e1012. <https://doi.org/10.9778/cmajo.20210024>

Maes, E., Lecomte, P., & Ray, N. (1998). A cost-of-illness study of Lyme disease in the United States. *Clin Ther*, 20(5), 993-1008. [https://doi.org/10.1016/s0149-2918\(98\)80081-7](https://doi.org/10.1016/s0149-2918(98)80081-7)

Maggi, R. G., Reichelt, S., Toliver, M., & Engber, B. (2010). *Borrelia* species in *Ixodes affinis* and *Ixodes scapularis* ticks collected from the coastal plain of North Carolina. *Ticks Tick Borne Dis*, 1(4), 168-171. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2010.08.003>

Magnavita, N., Capitanelli, I., Ilesanmi, O., & Chirico, F. (2022). Occupational Lyme Disease: a systematic review and meta-analysis. *Diagnostics (Basel)*, 12(2), 296.

<https://doi.org/10.3390/diagnostics12020296>

Main, A. J., Carey, A. B., Carey, M. G., & Goodwin, R. H. (1982). Immature *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) on small animals in Connecticut, USA. *J Med Entomol*, 19(6), 655-664.

<https://doi.org/10.1093/jmedent/19.6.655>

Mandli, J. T., Lee, X., Bron, G. M., & Paskewitz, S. M. (2021). Integrated tick management in south central Wisconsin: impact of invasive vegetation removal and host-targeted acaricides on the density of questing *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) nymphs. *J Med Entomol*, 58(6), 2358-2367. <https://doi.org/10.1093/jme/tjab131>

Mannelli, A., Bertolotti, L., Gern, L., & Gray, J. (2012). Ecology of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in Europe: transmission dynamics in multi-host systems, influence of molecular processes and

effects of climate change. *FEMS Microbiol Rev*, 36(4), 837-861. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00312.x>

Mannelli, A., Kitron, U., Jones, C. J., & Slajchert, T. L. (1993). Role of the Eastern Chipmunk as a Host for Immature *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) in Northwestern Illinois. *Journal of Medical Entomology*, 30(1), 87-93. <https://doi.org/10.1093/jmedent/30.1.87>

Maraspin, V., Ruzic-Sabljić, E., & Strle, F. (2006). Lyme borreliosis and *Borrelia spielmanii*. *Emerg Infect Dis*, 12(7), 1177. <https://doi.org/10.3201/eid1207.060077>

Marchiondo, A. A., Holdsworth, P. A., Green, P., Blagburn, B. L., & Jacobs, D. E. (2007). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) guidelines for evaluating the efficacy of parasiticides for the treatment, prevention and control of flea and tick infestation on dogs and cats. *Vet Parasitol*, 145, 332-344. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.10.028>

Marconi, R. T., Liveris, D., & Schwartz, I. (1995). Identification of novel insertion elements, restriction fragment length polymorphism patterns, and discontinuous 23S rRNA in Lyme disease spirochetes: phylogenetic analyses of rRNA genes and their intergenic spacers in *Borrelia japonica* sp. nov. and genomic group 21038 (*Borrelia andersonii* sp. nov.) isolates. *J Clin Microbiol*, 33(9), 2427-2434.

Marconi, R. T., Samuels, D. S., & Garon, C. F. (1993). Transcriptional analyses and mapping of the OspC gene in Lyme disease spirochetes. *J Bacteriol*, 175(4), 926-932. <https://doi.org/10.1128/jb.175.4.926-932.1993>

Margos, G., Fedorova, N., Becker, N. S., Kleinjan, J. E., Marosevic, D., Krebs, S., Hui, L., Fingerle, V., & Lane, R. S. (2020). *Borrelia maritima* sp. nov., a novel species of the *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex, occupying a basal position to North American species. *Int J Syst Evol Microbiol*, 70(2), 849-856. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003833>

Margos, G., Fedorova, N., Kleinjan, J. E., Hartberger, C., Schwan, T. G., Sing, A., & Fingerle, V. (2017). *Borrelia lanei* sp. nov. extends the diversity of *Borrelia* species in California. *Int J Syst Evol Microbiol*, 67(10), 3872-3876. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002214>

Margos, G., Hojgaard, A., Lane, R. S., Cornet, M., Fingerle, V., Rudenko, N., Ogden, N., Aanensen, D. M., Fish, D., & Piesman, J. (2010). Multilocus sequence analysis of *Borrelia bissettii* strains from North America reveals a new *Borrelia* species, *Borrelia kurtenbachii*. *Ticks Tick Borne Dis*, 1(4), 151-158. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2010.09.002>

Margos, G., Vollmer, S. A., Cornet, M., Garnier, M., Fingerle, V., Wilske, B., Bormane, A., Vitorino, L., Collares-Pereira, M., Drancourt, M., & Kurtenbach, K. (2009). A new *Borrelia* species defined by multilocus sequence analysis of housekeeping genes. *Appl Environ Microbiol*, 75(16), 5410-5416. <https://doi.org/10.1128/aem.00116-09>

Margos, G., Vollmer, S. A., Ogden, N. H., & Fish, D. (2011). Population genetics, taxonomy, phylogeny and evolution of *Borrelia burgdorferi sensu lato*. *Infect Genet Evol*, 11(7), 1545-1563. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.07.022>

Margos, G., Wilske, B., Sing, A., Hizo-Teufel, C., Cao, W.-C., Chu, C., Scholz, H., Straubinger, R. K., & Fingerle, V. (2013). *Borrelia bavariensis* sp. nov. is widely distributed in Europe and Asia. *Int J Syst Evol Microbiol*, 63(Pt_11), 4284-4288. doi: 10.1099/ijse.0.052001-0

Martin, L. B., Burgan, S. C., Adelman, J. S., & Gervasi, S. S. (2016). Host competence: an organismal trait to integrate immunology and epidemiology. *Integr Comp Biol*, 56(6), 1225-1237. <https://doi.org/10.1093/icb/icw064>

Masuzawa, T. (2004). Terrestrial distribution of the Lyme borreliosis agent *Borrelia burgdorferi sensu lato* in East Asia. *Jpn J Infect Dis*, 57(6), 229-235.

Masuzawa, T., Takada, N., Kudeken, M., Fukui, T., Yano, Y., Ishiguro, F., Kawamura, Y., Imai, Y., & Ezaki, T. (2001). *Borrelia sinica* sp. nov., a Lyme disease-related *Borrelia* species isolated in China. *Int J Syst Evol Microbiol*, 51(5), 1817-1824. doi: 10.1099/00207713-51-5-1817

Mather, T. N., Duffy, D. C., & Campbell, S. R. (1993). An unexpected result from burning vegetation to reduce Lyme disease transmission risks. *J Med Entomol*, 30(3), 642-645. <https://doi.org/10.1093/jmedent/30.3.642>

Mather, T. N., Nicholson, M. C., Donnelly, E. F., & Matyas, B. T. (1996). Entomologic index for human risk of Lyme disease. *Am J Epidemiol*, 144(11), 1066-1069. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a008879>

Mather, T. N., Ribeiro, J. M., & Spielman, A. (1987). Lyme disease and babesiosis: acaricide focused on potentially infected ticks. *Am J Trop Med Hyg*, 36, 609-614.

Mather, T. N., Ribeiro, J. M. C., Moore, S. I., & Spielman, A. (1988). Reducing transmission of Lyme disease spirochetes in a suburban setting. *JAMA*, 259(1), 402-403. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1988.tb31885.x>

Mather, T. N., Telford, S. R., Moore, S. I., & Spielman, A. (1990). *Borrelia burgdorferi* and *Babesia microti*: efficiency of transmission from reservoirs to vector ticks (*Ixodes dammini*). *Exp Parasitol*, 70(1), 55-61. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0014-4894\(90\)90085-Q](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0014-4894(90)90085-Q)

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

Matias, J., Kurokawa, C., Sajid, A., Narasimhan, S., Arora, G., Diktas, H., Lynn, G. E., DePonte, K., Pardi, N., Valenzuela, J. G., Weissman, D., & Fikrig, E. (2021). Tick immunity using mRNA, DNA and protein-based Salp14 delivery strategies. *Vaccine*, 39(52), 7661-7668.

<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.11.003>

McTier, Chubb, N., Curtis, M. P., Hedges, L., Inskeep, G. A., Knauer, C. S., Menon, S., Mills, B., Pullins, A., Zinser, E., Woods, D. J., & Meeus, P. (2016). Discovery of sarolaner: a novel, orally administered, broad-spectrum, isoxazoline ectoparasiticide for dogs. *Vet Parasitol*, 222, 3-11.

<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.02.019>

Mead, P., Hook, S., Niesobecki, S., Ray, J., Meek, J., Delorey, M., Prue, C., & Hinckley, A. (2018). Risk factors for tick exposure in suburban settings in the Northeastern United States. *Ticks Tick Borne Dis*, 9(2), 319-324. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.11.006>

Meek, J. I., Roberts, C. L., Smith, E. V., Jr., & Cartter, M. L. (1996). Underreporting of Lyme disease by Connecticut physicians, 1992. *J Public Health Manag Pract*, 2(4), 61-65.

<https://doi.org/10.1097/00124784-199623000-00017>

Meyers, D. C., Durlak, J. A., & Wandersman, A. J. A. j. o. c. p. (2012). The quality implementation framework: a synthesis of critical steps in the implementation process. *Am J Community Psychol*, 50(3-4), 462-480. doi: 10.1007/s10464-012-9522-x

Meyers, D. C., Katz, J., Chien, V., Wandersman, A., Scaccia, J. P., & Wright, A. (2012). Practical implementation science: developing and piloting the Quality Implementation Tool. *Am J Community Psychol*, 50(3-4), 481-496. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s10464-012-9521-y>

Miller, N. J., Thomas, W. A., & Mather, T. N. (2009). Evaluating a deer-targeted acaricide applicator for area-wide suppression of blacklegged ticks, *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae), in Rhode Island. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 9(4), 401-406. <https://doi.org/10.1089/vbz.2008.0164>

Mitchell, E. B., Dorr, P., Everett, W. R., Chester, T. S., & Larsen, D. (2014b). Efficacy of afoxolaner against *Dermacentor variabilis* ticks in dogs. *Vet Parasitol*, 201(3-4), 220-222.

<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.02.016>

Mitchell, E. B., McCall, J. W., Theodore Chester, S., & Larsen, D. (2014a). Efficacy of afoxolaner against *Ixodes scapularis* ticks in dogs. *Vet Parasitol*, 201(3-4), 223-225.

<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.02.015>

Mount, G. A., Haile, D. G., & Daniels, E. (1997a). Simulation of blacklegged tick (Acari:Ixodidae) population dynamics and transmission of *Borrelia burgdorferi*. *J Med Entomol*, 34(4), 461-484.

<https://doi.org/10.1093/jmedent/34.4.461>

Mount, G. A., Haile, D. G., & Daniels, E. (1997b). Simulation of management strategies for the blacklegged tick (Acari: Ixodidae) and the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*. *J Med Entomol*, 34(6), 672-683. <https://doi.org/10.1093/jmedent/34.6.672>

Ministère de la santé et des services sociaux. (2022). Surveillance de la maladie de Lyme. Gouvernement du Québec, Québec. En ligne :

<https://www.msss.gouv.qc.ca/professionnels/zoonoses/maladie-lyme/surveillance-de-la-maladie/>

Mulenga, A., Radulovic, Z., Porter, L., Britten, T. H., Kim, T. K., Tirloni, L., Gaithuma, A. K., Adeniyi-Ipadeola, G. O., Dietrich, J. K., Moresco, J. J., & Yates, J. R., 3rd. (2022). Identification and characterization of proteins that form the inner core *Ixodes scapularis* tick attachment cement layer. *Sci Rep*, 12(1), 21300. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-24881-4>

Müllegger, R. (2001). Clinical aspects and diagnosis of erythema migrans and borrelial lymphocytoma. *Acta dermatoven APA*, 10, 152-158. En ligne : <https://www.acta-apa.org/journals/acta-dermatovenerol-apa/papers/10.15570/archive/2001/4/Mullegger.pdf>

Munro, H. J., Ogden, N. H., Mechai, S., Lindsay, L. R., Robertson, G. J., Whitney, H., & Lang, A. S. (2019). Genetic diversity of *Borrelia garinii* from *Ixodes uriae* collected in seabird colonies of the northwestern Atlantic Ocean. *Ticks Tick Borne Dis*, 10(6), 101255. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.06.014>

Murphy, M., Cavalleri, D., Seewald, W., Drake, J., & Nanchen, S. (2017a). Laboratory evaluation of the speed of kill of lotilaner (Credelio™) against *Ixodes ricinus* ticks on dogs. *Parasit Vectors*, 10(1), 541. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2467-z>

Murphy, M., Garcia, R., Karadzovska, D., Cavalleri, D., Snyder, D., Seewald, W., Real, T., Drake, J., Wiseman, S., & Nanchen, S. (2017b). Laboratory evaluations of the immediate and sustained efficacy of lotilaner (Credelio™) against four common species of ticks affecting dogs in North America. *Parasit Vectors*, 10(1), 523. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2476-y>

Musilová, L., Kybicová, K., Fialová, A., Richtrová, E., & Kulma, M. (2022). First isolation of *Borrelia lusitaniae* DNA from green lizards (*Lacerta viridis*) and *Ixodes ricinus* ticks in the Czech Republic. *Ticks Tick Borne Dis*, 13(2), 101887. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101887>

Nadelman, R. B., Nowakowski, J., Fish, D., Falco, R. C., Freeman, K., McKenna, D., Welch, P., Marcus, R., Agüero-Rosenfeld, M. E., Dennis, D. T., & Wormser, G. P. (2001). Prophylaxis with single-dose doxycycline for the prevention of Lyme disease after an *Ixodes scapularis* tick bite. *N Engl J Med*, 345(2), 79-84. <https://doi.org/10.1056/nejm200107123450201>

Naleway, A. L., Belongia, E. A., Kazmierczak, J. J., Greenlee, R. T., & Davis, J. P. (2002). Lyme disease incidence in Wisconsin: a comparison of state-reported rates and rates from a population-based cohort. *Am J Epidemiol*, 155(12), 1120-1127. <https://doi.org/10.1093/aje/155.12.1120>

Nauen, R., Slater, R., Sparks, T. C., Elbert, A., & Mccaffery, A. (2019). IRAC: Insecticide Resistance and Mode-of-action Classification of Insecticides. In *Modern Crop Protection Compounds* (pp. 995-1012). <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9783527699261.ch28>

Neelakanta, G., Li, X., Pal, U., Liu, X., Beck, D. S., DePonte, K., Fish, D., Kantor, F. S., & Fikrig, E. (2007). Outer surface protein B is critical for *Borrelia burgdorferi* adherence and survival within *Ixodes* ticks. *PLoS Pathog*, 3(3), e33. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0030033>

Nelson, C. A., Saha, S., Kugeler, K. J., Delorey, M. J., Shankar, M. B., Hinckley, A. F., & Mead, P. S. (2015). Incidence of clinician-diagnosed Lyme Disease, United States, 2005-2010. *Emerg Infect Dis*, 21(9), 1625-1631. <https://doi.org/10.3201/eid2109.150417>

Nijhof, A. M., Guglielmone, A. A., & Horak, I. G. (2018). TicksBase (version 5.6, Jun 2005). In Y. Roskov, L. Abucay, T. Orrell, D. Nicolson, N. Bailly, P. M. Kirk, T. Bourgoin, R. E. DeWalt, W. Decock, A. De Wever, E. v. Nieukerken, J. Zarucchi, & L. Penev (Eds.), *Species 2000 & ITIS Catalogue of Life, 2018 Annual Checklist*. Species 2000: Naturalis.

Niścigorska, J., Skotarczak, B., & Wodecka, B. (2003). *Borrelia burgdorferi* infection among forestry workers - assessed with an immunoenzymatic method (ELISA), PCR and correlated with the clinical state of the patients. *Ann Agric Environ Med*, 10(1), 15-19.

Nuttall, P. A. (2019a). Tick saliva and its role in pathogen transmission. *Wien Klin Wochenschr*. <https://doi.org/10.1007/s00508-019-1500-y>

Nuttall, P. A. (2019b). Wonders of tick saliva. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 10(2), 470-481. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.11.005>

Ogden, N. H. (2017). Climate change and vector-borne diseases of public health significance. *FEMS Microbiol Lett*, 364(19). <https://doi.org/10.1093/femsle/fnx186>

Ogden, N. H., Bigras-Poulin, M., O'Callaghan C, J., Barker, I. K., Kurtenbach, K., Lindsay, L. R., & Charron, D. F. (2007). Vector seasonality, host infection dynamics and fitness of pathogens transmitted by the tick *Ixodes scapularis*. *Parasitology*, 134(Pt 2), 209-227. <https://doi.org/10.1017/s0031182006001417>

Ogden, N. H., Bouchard, C., Badcock, J., Drebot, M. A., Elias, S. P., Hatchette, T. F., Koffi, J. K., Leighton, P. A., Lindsay, L. R., Lubelczyk, C. B., Peregrine, A. S., Smith, R. P., & Webster, D. (2019). What is the real number of Lyme disease cases in Canada? *BMC Public Health*, 19(1), 849. <https://doi.org/10.1186/s12889-019-7219-x>

Ogden, N. H., Bouchard, C., Brankston, G., Brown, E. M., Corrin, T., Dibernardo, A., Drebot, M. A., Fisman, D. N., Galanis, E., Greer, A., Jenkins, E., Kus, J. V., Leighton, P. A., Lindsay, L. R., Lowe, A.-M., Ludwig, A., Morris, S. K., Ng, V., Vrbova, L., ... Wood, H. (2022). Infectious Diseases. In P. Berry & R. Schnitter (Eds.), *Health of Canadians in a changing climate: advancing our knowledge for action*. Government of Canada, Ottawa.

Ogden, N. H., & Lindsay, L. R. (2016). Effects of climate and climate change on vectors and vector-borne diseases: ticks are different. *Trends Parasitol*, 32(8), 646-656. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2016.04.015>

Ogden, N. H., Lindsay, L. R., Beauchamp, G., Charron, D., Maarouf, A., O'Callaghan, C. J., Waltner-Toews, D., & Barker, I. K. (2004). Investigation of relationships between temperature and developmental rates of tick *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in the laboratory and field. *J Med Entomol*, 41(4), 622-633. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-41.4.622>

Ogden, N. H., Lindsay, L. R., Hanincová, K., Barker, I. K., Bigras-Poulin, M., Charron, D. F., Heagy, A., Francis, C. M., O'Callaghan, C. J., Schwartz, I., & Thompson, R. A. (2008). Role of migratory birds in introduction and range expansion of *Ixodes scapularis* ticks and of *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum* in Canada. *Appl Environ Microbiol*, 74, 1780-1790. <https://doi.org/10.1128/AEM.01982-07>

Ogden, N. H., Lindsay, L. R., Morshed, M., Sockett, P. N., & Artsob, H. (2009). The emergence of Lyme disease in Canada. *Can Med Assoc J*, 180, 1221-1224. doi: 10.1503/cmaj.080148

Ogden, N. H., & Tsao, J. I. (2009). Biodiversity and Lyme disease: dilution or amplification? *Epidemics*, 1(3), 196-206. <https://doi.org/10.1016/j.epidem.2009.06.002>

Ohmes, C. M., Hostetler, J., Davis, W. L., Settje, T., & Everett, W. R. (2015). Comparative efficacy of an imidacloprid/flumethrin Collar (Seresto®) and an oral afoxolaner chewable (NexGard®) against tick (*Dermacentor variabilis* and *Amblyomma americanum*) infestations on dogs: a randomised controlled trial. *Parasitol Res*, 114 Suppl 1, S81-94. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4515-y>

Oliver, J. H., Jr., Lin, T., Gao, L., Clark, K. L., Banks, C. W., Durden, L. A., James, A. M., & Chandler, F. W., Jr. (2003). An enzootic transmission cycle of Lyme borreliosis spirochetes in the southeastern United States. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100(20), 11642-11645. <https://doi.org/10.1073/pnas.1434553100>

Orloski, K. A., Campbell, G. L., Genese, C. A., Beckley, J. W., Schriefer, M. E., Spitalny, K. C., & Dennis, D. T. (1998). Emergence of Lyme disease in Hunterdon County, New Jersey, 1993: a case-control study of risk factors and evaluation of reporting patterns. *Am J Epidemiol*, 147(4), 391-397. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a009462>

Ostfeld, R., Canham, C., Oggenfuss, K., Winchcombe, R. J., & Keesing, F. (2006a). Climate, deer, rodents, and acorns as determinants of variation in lyme-disease risk. *PLoS Biol*, 4(6), e145. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040145>

Ostfeld, R. S., Cepeda, O. M., Hazler, K. R., & Miller, M. C. (1995). Ecology of Lyme Disease: habitat associations of ticks (*Ixodes Scapularis*) in a rural landscape. *Ecol Appl*, 5(2), 353-361. <https://doi.org/10.2307/1942027>

Ostfeld, R. S., Keesing, F., Ostfeld, R. S., & Keesing, F. (2008). Biodiversity and disease risk : the case of Lyme Disease. *Conserv Biol*, 14, 722-728. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2000.99014.x>

Ostfeld, R. S., Mowry, S., Bremer, W., Duerr, S., Evans, A. S., Jr., Fischhoff, I. R., Hinckley, A. F., Hook, S. A., Keating, F., Pendleton, J., Pfister, A., Teator, M., & Keesing, F. (2023). Impacts over time of neighborhood-scale interventions to control ticks and tick-borne disease incidence. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 23(3), 89-105. <https://doi.org/10.1089/vbz.2022.0094>

Ostfeld, R. S., Price, A., Hornbostel, V. L., Benjamin, M. A., & Keesing, F. (2006b). Controlling ticks and tick-borne zoonoses with biological and chemical agents. *BioScience*, 56(5), 383-394. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2006\)056\[0383:CTATZW\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2006)056[0383:CTATZW]2.0.CO;2) %J BioScience

Otaki, H., Sonobe, J., Murphy, M., Cavalleri, D., Seewald, W., Drake, J., & Nanchen, S. (2018). Laboratory evaluation of the efficacy of lotilaner (Credelio™) against *Haemaphysalis longicornis* infestations of dogs. *Parasit Vectors*, 11(1), 448. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3032-0>

Ouhoumane, N., Pelletier, R., Ripoché, M., Irace-Cima, A., Milord, F., & Thivierge, K. (2022). Portrait de la maladie de Lyme au Québec : 2006-2019. Gouvernement du Québec, Québec. En ligne: <https://www.inspq.qc.ca/sites/default/files/publications/2844-portrait-maladie-lyme-2006-2019.pdf>

Organisation mondiale de la santé. (2013). First meeting of the vector control advisory group. Genève, Suisse, 31 pages.

Organisation mondiale de la santé. (2015). Biosafety for human health and the environment in the context of the potential use of genetically modified mosquitoes (GMM). Genève, Suisse, 242 pages.

Ozoe, Y., Asahi, M., Ozoe, F., Nakahira, K., & Mita, T. (2010). The antiparasitic isoxazoline A1443 is a potent blocker of insect ligand-gated chloride channels. *Biochem Biophys Res Commun*, 391, 744-749. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.11.131>

Packianathan, R., Hodge, A., Bruellke, N., Davis, K., & Maeder, S. (2017). Comparative speed of kill of sarolaner (Simparica®) and afoxolaner (NexGard®) against induced infestations of *Ixodes holocyclus* on dogs. *Parasit Vectors*, 10(1), 98. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2024-9>

Pal, U., de Silva, A. M., Montgomery, R. R., Fish, D., Anguita, J., Anderson, J. F., Lobet, Y., & Fikrig, E. (2000). Attachment of *Borrelia burgdorferi* within *Ixodes scapularis* mediated by outer surface protein A. *J Clin Invest*, 106(4), 561-569. <https://doi.org/10.1172/jci9427>

Pal, U., Li, X., Wang, T., Montgomery, R. R., Ramamoorthi, N., Desilva, A. M., Bao, F., Yang, X., Pypaert, M., Pradhan, D., Kantor, F. S., Telford, S., Anderson, J. F., & Fikrig, E. (2004). TROSPA, an *Ixodes scapularis* receptor for *Borrelia burgdorferi*. *Cell*, 119(4), 457-468. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.10.027>

Palmieri, V., Dodds, W. J., Morgan, J., Carney, E., Fritsche, H. A., Jeffrey, J., Bullock, R., & Kimball, J. P. (2020). Survey of canine use and safety of isoxazoline parasiticides. *Vet Med Sci*, 6(4), 933-945. <https://doi.org/10.1002/vms3.285>

Patrican, L. A. (1997). Absence of Lyme disease spirochetes in larval progeny of naturally infected *Ixodes scapularis* (Acari:Ixodidae) fed on dogs. *J Med Entomol*, 34(1), 52-55.

<https://doi.org/10.1093/jmedent/34.1.52>

Pepin, K. M., Eisen, R. J., Mead, P. S., Piesman, J., Fish, D., Hoen, A. G., Barbour, A. G., Hamer, S., & Diuk-Wasser, M. A. (2012). Geographic variation in the relationship between human Lyme disease incidence and density of infected host-seeking *Ixodes scapularis* nymphs in the Eastern United States. *Am J Trop Med Hyg*, 86(6), 1062-1071. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2012.11-0630>

Picken, R. N., Cheng, Y., Strle, F., & Picken, M. M. (1996). Patient isolates of *Borrelia burgdorferi sensu lato* with genotypic and phenotypic similarities to strain 25015. *J Infect Dis*, 174(5), 1112-1115. doi: 10.1093/infdis/174.5.1112

Picken, R. N., & Picken, M. M. (2000). Molecular characterization of *Borrelia* spp. isolates from greater metropolitan Chicago reveals the presence of *Borrelia bissettii*. Preliminary report. *J Mol Microbiol Biotechnol*, 2(4), 505-507.

Piesman, J. (1993). Dynamics of *Borrelia burgdorferi* transmission by nymphal *Ixodes dammini* ticks. *J Infect Dis*, 167(5), 1082-1085. <https://doi.org/10.1093/infdis/167.5.1082>

Piesman, J., & Dolan, M. C. (2002). Protection against Lyme disease spirochete transmission provided by prompt removal of nymphal *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol*, 39(3), 509-512. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-39.3.509>

Piesman, J., & Gern, L. (2004). Lyme borreliosis in Europe and North America. *Parasitology*, 129 Suppl, S191-S220. <https://doi.org/10.1017/S0031182003004694>

Piesman, J., & Spielman, A. (1979). Host-associations and seasonal abundance of immature *Ixodes dammini* in southeastern Massachusetts. *Ann Entomol Soc Am*, 72(6), 829-832.

<https://doi.org/10.1093/aesa/72.6.829> %J Annals of the Entomological Society of America

Piesman, J., Spielman, A., Etkind, P., Ruebush, T. K., II, & Juranek, D. D. (1979). Role of deer in the epizootiology of *Babesia microti* in Massachusetts, USA. *J Med Entomol*, 15(5-6), 537-540.

<https://doi.org/10.1093/jmedent/15.5-6.537>

Poché, D. M., Dawson, K., Tseveenjav, B., & Poché, R. M. (2021). Efficacy of low-dose fipronil bait against blacklegged tick (*Ixodes scapularis*) larvae feeding on white-footed mice (*Peromyscus leucopus*) under simulated field conditions. *Parasit Vectors*, 14(1), 459.

<https://doi.org/10.1186/s13071-021-04930-z>

Poché, D. M., Franckowiak, G., Clarke, T., Tseveenjav, B., Polyakova, L., & Poché, R. M. (2020). Efficacy of a low dose fipronil bait against blacklegged tick (*Ixodes scapularis*) larvae feeding on white-footed mice (*Peromyscus leucopus*) under laboratory conditions. *Parasit Vectors*, 13(1),

391. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04258-0>

Poché, D. M., Smith, Z., & Poché, R. M. (2023). Efficacy of a federally approved flea bait, orally administered to white-footed mice (*Peromyscus leucopus*), against blood feeding *Ixodes scapularis* larvae under simulated field conditions. *Int J Parasitol Parasites Wildl*, 21, 33-42.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2023.04.001>

Postic, D., Garnier, M., & Baranton, G. (2007). Multilocus sequence analysis of atypical *Borrelia burgdorferi sensu lato* isolates - description of *Borrelia californiensis* sp. nov., and

genomospecies 1 and 2. *Int J Med Microbiol*, 297(4), 263-271.

<https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2007.01.006>

Postic, D., Korenberg, E., Gorelova, N., Kovalevski, Y. V., Bellenger, E., & Baranton, G. (1997).

Borrelia burgdorferi sensu lato in Russia and neighbouring countries: high incidence of mixed

isolates. *Res Microbiol*, 148(8), 691-702. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0923->

2508(99)80068-0

Postic, D., Ras, N. M., Lane, R. S., Hendson, M., & Baranton, G. (1998). Expanded diversity

among Californian *Borrelia* isolates and description of *Borrelia bissettii* sp. nov. (formerly

Borrelia group DN127). *J Clin Microbiol*, 36(12), 3497-3504.

<https://doi.org/10.1128/jcm.36.12.3497-3504.1998>

Pound, J. M., Miller, J. A., George, J. E., Fish, D., Carroll, J. F., Schulze, T. L., Daniels, T. J., Falco, R.

C., Stafford, K. C., & Mather, T. N. (2009). The United States Department of Agriculture's

Northeast area-wide tick control project: summary and conclusions. *Vector Borne Zoonotic Dis*,

9(4), 439-448. <https://doi.org/10.1089/vbz.2008.0200>

Pound, J. M., Miller, J. A., George, J. E., & Lemeilleur, C. A. (2000). The 4-poster passive topical

treatment device to apply acaricide for controlling ticks (Acari: Ixodidae) feeding on white-tailed

deer. *J Med Entomol*, 37(4), 588-594. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-37.4.588>

Pritt, B. S., Mead, P. S., Johnson, D. K. H., Neitzel, D. F., Respicio-Kingry, L. B., Davis, J. P.,

Schiffman, E., Sloan, L. M., Schriefer, M. E., Replogle, A. J., Paskewitz, S. M., Ray, J. A., Bjork, J.,

Steward, C. R., Deedon, A., Lee, X., Kingry, L. C., Miller, T. K., Feist, M. A., ... Petersen, J. M.

(2016a). Identification of a novel pathogenic *Borrelia* species causing Lyme borreliosis with

unusually high spirochaetaemia: a descriptive study. *Lancet Infect Dis*, 16(5), 556-564.

[https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(15\)00464-8](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(15)00464-8)

Pritt, B. S., Respicio-Kingry, L. B., Sloan, L. M., Schriefer, M. E., Replogle, A. J., Bjork, J., Liu, G., Kingry, L. C., Mead, P. S., Neitzel, D. F., Schiffman, E., Hoang Johnson, D. K., Davis, J. P., Paskewitz, S. M., Boxrud, D., Deedon, A., Lee, X., Miller, T. K., Feist, M. A., ... Petersen, J. M. (2016b). *Borrelia mayonii* sp. nov., a member of the *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex, detected in patients and ticks in the upper midwestern United States. *Int J Syst Evol Microbiol*, 66(11), 4878-4880. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001445>

Prullage, J. B., Tran, H. V., Timmons, P., Harriman, J., Chester, S. T., & Powell, K. (2011). The combined mode of action of fipronil and amitraz on the motility of *Rhipicephalus sanguineus*. *Vet Parasitol*, 179(4), 302-310. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.03.041>

Radesich, C., Del Mestre, E., Medo, K., Vitrella, G., Manca, P., Chiatto, M., Castrichini, M., & Sinagra, G. (2022). Lyme carditis: from pathophysiology to clinical management. *Pathogens*, 11(5). <https://doi.org/10.3390/pathogens11050582>

Rand, P. W., Lacombe, E. H., Holman, M. S., Lubelczyk, C., & Smith, R. P., Jr. (2000). Attempt to control ticks (Acari: Ixodidae) on deer on an isolated island using ivermectin-treated corn. *J Med Entomol*, 37(1), 126-133. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-37.1.126>

Rand, P. W., Lacombe, E. H., Smith, R. P., Jr., Rich, S. M., Kilpatrick, C. W., Dragoni, C. A., & Caporale, D. (1993). Competence of *Peromyscus maniculatus* (Rodentia: Cricetidae) as a reservoir host for *Borrelia burgdorferi* (Spirochaetales: Spirochaetaceae) in the wild. *J Med Entomol*, 30(3), 614-618. <https://doi.org/10.1093/jmedent/30.3.614>

Rand, P. W., Lubelczyk, C., Holman, M. S., Lacombe, E. H., & Smith, R. P., Jr. (2004). Abundance of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) after the complete removal of deer from an isolated offshore island, endemic for Lyme Disease. *J Med Entomol*, 41(4), 779-784.

<https://doi.org/10.1603/0022-2585-41.4.779>

Rand, P. W., Lubelczyk, C., Lavigne, G. R., Elias, S., Holman, M. S., Lacombe, E. H., & Smith, R. P. J. (2003). Deer density and the abundance of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol*, 40, 179-184. doi: 10.1603/0022-2585-40.2.179

Randolph, S. E., Gern, L., & Nuttall, P. A. (1996). Co-feeding ticks: epidemiological significance for tick-borne pathogen transmission. *Parasitol Today*, 12(12), 472-479.

[https://doi.org/10.1016/s0169-4758\(96\)10072-7](https://doi.org/10.1016/s0169-4758(96)10072-7)

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(8), 979-989. [https://doi.org/10.1016/s0020-7519\(02\)00030-9](https://doi.org/10.1016/s0020-7519(02)00030-9)

Richer, L. M., Brisson, D., Melo, R., Ostfeld, R. S., Zeidner, N., & Gomes-Solecki, M. (2014). Reservoir targeted vaccine against *Borrelia burgdorferi*: a new strategy to prevent Lyme disease transmission. *J Infect Dis*, 209, 1972-1980. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu005>

Richter, D., Matuschka, F. R., Spielman, A., & Mahadevan, L. (2013). How ticks get under your skin: insertion mechanics of the feeding apparatus of *Ixodes ricinus* ticks. *Proc Biol Sci*, 280(1773), 20131758. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.1758>

Richter, D., Postic, D., Sertour, N., Livey, I., Matuschka, F. R., & Baranton, G. (2006). Delineation of *Borrelia burgdorferi sensu lato* species by multilocus sequence analysis and confirmation of

the delineation of *Borrelia spielmanii* sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol, 56(Pt 4), 873-881.

<https://doi.org/10.1099/ijs.0.64050-0>

Rijpkema, S. G., Tazelaar, D. J., Molkenboer, M. J., Noordhoek, G. T., Plantinga, G., Schouls, L. M., & Schellekens, J. F. (1997). Detection of *Borrelia afzelii*, *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia garinii* and group VS116 by PCR in skin biopsies of patients with erythema migrans and acrodermatitis chronica atrophicans. Clin Microbiol Infect, 3(1), 109-116.

<https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.1997.tb00259.x>

Robert, M. A., Stewart-Ibarra, A. M., & Estallo, E. L. (2020). Climate change and viral emergence: evidence from *Aedes*-borne arboviruses. Curr Opin Virol, 40, 41-47.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.coviro.2020.05.001>

Rubin, D. A., Sorbera, C., Nikitin, P., McAllister, A., Wormser, G. P., & Nadelman, R. B. (1992). Prospective evaluation of heart block complicating early Lyme disease. Pacing Clin Electrophysiol, 15(3), 252-255. <https://doi.org/10.1111/j.1540-8159.1992.tb06492.x>

Rudenko, N., Golovchenko, M., Grubhoffer, L., & Oliver, J. H. (2009a). *Borrelia carolinensis* sp. nov., a new (14th) member of the *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex from the southeastern region of the United States. J Clin Microbiol, 47(1), 134-141.

<https://doi.org/doi:10.1128/JCM.01183-08>

Rudenko, N., Golovchenko, M., Grubhoffer, L., & Oliver, J. H., Jr. (2011). Updates on *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex with respect to public health. Ticks Tick Borne Dis, 2(3), 123-128.

<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2011.04.002>

Rudenko, N., Golovchenko, M., Lin, T., Gao, L., Grubhoffer, L., & Oliver, J. H., Jr. (2009c).

Delineation of a new species of the *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex, *Borrelia americana* sp. nov. J Clin Microbiol, 47(12), 3875-3880. <https://doi.org/10.1128/jcm.01050-09>

Rudenko, N., Golovchenko, M., Růžek, D., Piskunova, N., Mallátová, N., & Grubhoffer, L. (2009b).

Molecular detection of *Borrelia bissettii* DNA in serum samples from patients in the Czech Republic with suspected borreliosis. FEMS Microbiol Lett, 292(2), 274-281.

<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2009.01498.x>

Sadziene, A., Wilske, B., Ferdows, M. S., & Barbour, A. G. (1993). The cryptic OspC gene of *Borrelia burgdorferi* B31 is located on a circular plasmid. Infect Immun, 61(5), 2192-2195.

<https://doi.org/10.1128/iai.61.5.2192-2195.1993>

Sajid, A., Matias, J., Arora, G., Kurokawa, C., DePonte, K., Tang, X., Lynn, G., Wu, M. J., Pal, U., Strank, N. O., Pardi, N., Narasimhan, S., Weissman, D., & Fikrig, E. (2021). mRNA vaccination induces tick resistance and prevents transmission of the Lyme disease agent. Sci Transl Med, 13(620), eabj9827. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abj9827>

Sauvé, C. C., Rees, E. E., Gilbert, A. T., Berentsen, A. R., Allibert, A., & Leighton, P. A. (2021).

Modeling Mongoose Rabies in the Caribbean: A model-guided fieldwork approach to identify research priorities. Viruses, 13(2), 323. <https://www.mdpi.com/1999-4915/13/2/323>

Scheffold, N., Herkommer, B., Kandolf, R., & May, A. E. (2015). Lyme carditis - diagnosis, treatment and prognosis. Dtsch Arztebl Int, 112(12), 202-208.

<https://doi.org/10.3238/arztebl.2015.0202>

Schmidt, K. A., Ostfeld, R. S., & Schaubert, 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(6), 749-757. <https://doi.org/10.1093/jmedent/36.6.749>

Schneider, B. S., Zeidner, N. S., Burkot, T. R., Maupin, G. O., & Piesman, J. (2000). *Borrelia* isolates in northern Colorado identified as *Borrelia bissettii*. *J Clin Microbiol*, 38(8), 3103-3105. <https://doi.org/10.1128/jcm.38.8.3103-3105.2000>

Schuijt, T. J., Hovius, J. W., van der Poll, T., van Dam, A. P., & Fikrig, E. (2011). Lyme borreliosis vaccination: the facts, the challenge, the future. *Trends Parasitol*, 27(1), 40-47. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2010.06.006>

Schulze, T. L., Bowen, G. S., Lakat, M. F., Parkin, W. E., & Shisler, J. K. (1985). The role of adult *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) in the transmission of Lyme disease in New Jersey, USA. *J Med Entomol*, 22(1), 88-93. <https://doi.org/10.1093/jmedent/22.1.88>

Schulze, T. L., & Jordan, R. A. (1996). Seasonal and long-term variations in abundance of adult *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in different coastal plain habitats of New Jersey. *J Med Entomol*, 33(6), 963-970. <https://doi.org/10.1093/jmedent/33.6.963>

Schulze, T. L., Jordan, R. A., & Hung, R. W. (1995). Suppression of subadult *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) following removal of leaf litter. *J Med Entomol*, 32(5), 730-733. <https://doi.org/10.1093/jmedent/32.5.730>

Schulze, T. L., Jordan, R. A., Hung, R. W., & Schulze, C. J. (2009). Effectiveness of the 4-Poster passive topical treatment device in the control of *Ixodes scapularis* and *Amblyomma*

americanum (Acari: Ixodidae) in New Jersey. Vector Borne Zoonotic Dis, 9(4), 389-400.

<https://doi.org/10.1089/vbz.2008.0160>

Schulze, T. L., Jordan, R. A., Schulze, C. J., Healy, S. P., Jahn, M. B., & Piesman, J. (2007).

Integrated use of 4-Poster passive topical treatment devices for deer, targeted acaricide applications, and Maxforce TMS bait boxes to rapidly suppress populations of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in a residential landscape. J Med Entomol, 44(5), 830-839.

[https://doi.org/10.1603/0022-2585\(2007\)44\[830:iuoppt\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1603/0022-2585(2007)44[830:iuoppt]2.0.co;2)

Schulze, T. L., Jordan, R. A., Vasvary, L. M., Chomsky, M. S., Shaw, D. C., Meddis, M. A., Taylor, R. C., & Piesman, J. (1994). Suppression of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) nymphs in a large residential community. J Med Entomol, 31(2), 206-211.

<https://doi.org/10.1093/jmedent/31.2.206>

Schulze, T. L., Jordan, R. A., Williams, M., & Dolan, M. C. (2017). Evaluation of the SELECT Tick Control System (TCS), a host-targeted bait box, to reduce exposure to *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in a Lyme Disease endemic area of New Jersey. J Med Entomol, 54(4), 1019-1024.

<https://doi.org/10.1093/jme/tjx044>

Schulze, T. L., Taylor, G. C., Jordan, R. A., Bosler, E. M., & Shisler, J. K. (1991). Effectiveness of selected granular acaricide formulations in suppressing populations of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae): short-term control of nymphs and larvae. J Med Entomol, 28(5), 624-629.

<https://doi.org/10.1093/jmedent/28.5.624>

Schwameis, M., Kundig, T., Huber, G., von Bidder, L., Meinel, L., Weisser, R., Aberer, E., Harter, G., Weinke, T., Jelinek, T., Fatkenheuer, G., Wollina, U., Burchard, G. D., Aschoff, R., Nischik, R.,

Sattler, G., Popp, G., Lotte, W., Wiechert, D., ... Jilma, B. (2017). Topical azithromycin for the prevention of Lyme borreliosis: a randomised, placebo-controlled, phase 3 efficacy trial. *Lancet Infect Dis*, 17(3), 322-329. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(16\)30529-1](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(16)30529-1)

Schwan, T. G., Piesman, J., Golde, W. T., Dolan, M. C., & Rosa, P. A. (1995). Induction of an outer surface protein on *Borrelia burgdorferi* during tick feeding. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92(7), 2909-2913. <https://doi.org/doi:10.1073/pnas.92.7.2909>

Schwartz, A. M., Hinckley, A. F., Mead, P. S., Hook, S. A., & Kugeler, K. J. (2017). Surveillance for Lyme Disease - United States, 2008-2015. *MMWR Surveill Summ*, 66(22), 1-12. <https://doi.org/10.15585/mmwr.ss6622a1>

Schwartz, B. S., & Goldstein, M. D. (1990). Lyme disease in outdoor workers: risk factors, preventive measures, and tick removal methods. *Am J Epidemiol*, 131(5), 877-885. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a115578>

Ścieszka, J., Dąbek, J., & Cieślik, P. (2015). Post-Lyme disease syndrome. *Reumatologia*, 53(1), 46-48. <https://doi.org/10.5114/reum.2015.50557>

Seinost, G., Dykhuizen, D. E., Dattwyler, R. J., Golde, W. T., Dunn, J. J., Wang, I. N., Wormser, G. P., Schriefer, M. E., & Luft, B. J. (1999). Four clones of *Borrelia burgdorferi sensu stricto* cause invasive infection in humans. *Infect Immun*, 67(7), 3518-3524. <https://doi.org/10.1128/iai.67.7.3518-3524.1999>

Semenza, J. C., Lindgren, E., Balkanyi, L., Espinosa, L., Almqvist, M. S., Penttinen, P., & Rocklöv, J. (2016). Determinants and drivers of infectious disease threat events in Europe. *Emerg Infect Dis*, 22(4), 581-589. <https://doi.org/10.3201/eid2204>

Shapiro, E. D., Gerber, M. A., Holabird, N. B., Berg, A. T., Feder, H. M., Bell, G. L., Rys, P. N., & Persing, D. H. (1992). A controlled trial of antimicrobial prophylaxis for Lyme disease after deer-tick bites. *N Engl J Med*, 327(25), 1769-1773. <https://doi.org/10.1056/nejm199212173272501>

Shi, Y., Xu, Q., McShan, K., & Liang, F. T. (2008). Both decorin-binding proteins A and B are critical for the overall virulence of *Borrelia burgdorferi*. *Infect Immun*, 76(3), 1239-1246. <https://doi.org/10.1128/iai.00897-07>

Shoop, W. L., Hartline, E. J., Gould, B. R., Waddell, M. E., McDowell, R. G., Kinney, J. B., Lahm, G. P., Long, J. K., Xu, M., Wagerle, T., Jones, G. S., Dietrich, R. F., Cordova, D., Schroeder, M. E., Rhoades, D. F., Benner, E. A., & Confalone, P. N. (2014). Discovery and mode of action of afoxolaner, a new isoxazoline parasiticide for dogs. *Vet Parasitol*, 201, 179-189. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.02.020>

Sidge, J. L., Foster, E. S., Buttke, D. E., Hojgaard, A., Graham, C. B., & Tsao, J. I. (2021). Lake Michigan insights from island studies: the roles of chipmunks and coyotes in maintaining *Ixodes scapularis* and *Borrelia burgdorferi* in the absence of white-tailed deer. *Ticks Tick Borne Dis*, 12(5), 101761. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101761>

Simon-Delso, N., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L. P., Bonmatin, J. M., Chagnon, M., Downs, C., Furlan, L., Gibbons, D. W., Giorio, C., Girolami, V., Goulson, D., Kreuzweiser, D. P., Krupke, C. H., Liess, M., Long, E., McField, M., Mineau, P., Mitchell, E. A. D., Morrissey, C. A., . . . Wiemers, M. (2015). Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. *Environ Sci Pollut Res*, 22(1), 5-34. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3470-y>

Six, R. H., Everett, W. R., Chapin, S., & Mahabir, S. P. (2016a). Comparative speed of kill of sarolaner (Simparica) and afoxolaner (NexGard) against induced infestations of *Amblyomma americanum* on dogs. *Parasit Vectors*, 9, 98. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1378-8>

Six, R. H., Geurden, T., Carter, L., Everett, W. R., McLoughlin, A., Mahabir, S. P., Myers, M. R., & Sloomans, N. (2016e). Evaluation of the speed of kill of sarolaner (Simparica™) against induced infestations of three species of ticks (*Amblyomma maculatum*, *Ixodes scapularis*, *Ixodes ricinus*) on dogs. *Vet Parasitol*, 222, 37-42. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.02.014>

Six, R. H., Young, D. R., Holzmer, S. J., & Mahabir, S. P. (2016c). Comparative speed of kill of sarolaner (Simparica) and afoxolaner (NexGard) against induced infestations of *Rhipicephalus sanguineus s.l.* on dogs. *Parasit Vectors*, 9, 91. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1375-y>

Six, R. H., Young, D. R., Myers, M. R., & Mahabir, S. P. (2016b). Comparative speed of kill of sarolaner (Simparica) and afoxolaner (NexGard) against induced infestations of *Ixodes scapularis* on dogs. *Parasit Vectors*, 9, 79. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1307-x>

Six, R. H., Young, D. R., Myers, M. R., & Mahabir, S. P. (2016d). Comparative speed of kill of sarolaner (Simparica™ Chewables) and fluralaner (Bravecto®) against induced infestations of *Amblyomma americanum* on dogs. *Parasit Vectors*, 9(1), 399. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1684-1>

Siy, P. N., Larson, R. T., Zembsch, T. E., Lee, X., & Paskewitz, S. M. (2021). High prevalence of *Borrelia mayonii* (Spirochaetales: Spirochaetaceae) in field-caught *Tamias striatus* (Rodentia: Sciuridae) from northern Wisconsin. *J Med Entomol*, 58(6), 2504-2507.

<https://doi.org/10.1093/jme/tjab102>

Slajchert, T., Kitron, U. D., Jones, C. J., & Mannelli, A. (1997). Role of the eastern chipmunk (*Tamias striatus*) in the epizootiology of Lyme borreliosis in northwestern Illinois, USA. *J Wildl Dis*, 33(1), 40-46. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-33.1.40>

Smith, G., Wileyto, E. P., Hopkins, R. B., Cherry, B. R., & Maher, J. P. (2001). Risk factors for Lyme disease in Chester County, Pennsylvania. *Public Health Rep*, 116 Suppl 1, 146-156. <https://doi.org/10.1093/phr/116.S1.146>

Smith, P. F., Benach, J. L., White, D. J., Stroup, D. F., & Morse, D. L. (1988). Occupational risk of Lyme disease in endemic areas of New York State. *Ann N Y Acad Sci*, 539, 289-301. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1988.tb31863.x>

Smith, R. P., Muzaffar, S. B., Lavers, J., Lacombe, E. H., Cahill, B. K., Lubelczyk, C. B., Kinsler, A., Mathers, A. J., & Rand, P. W. (2006). *Borrelia garinii* in seabird ticks (*Ixodes uriae*), Atlantic Coast, North America. *Emerg Infect Dis*, 12(12), 1909. <https://doi.org/10.3201/eid1212.060448>

Solberg, V. B., Miller, J. A., Hadfield, T., Burge, R., Schech, J. M., & Pound, J. M. (2003). Control of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) with topical self-application of permethrin by white-tailed deer inhabiting NASA, Beltsville, Maryland. *J Vector Ecol*, 28(1), 117-134.

Sood, S. K. (Ed.). (2011). *Lyme Borreliosis in Europe and North America: Epidemiology and Clinical Practice* (Wiley-Blackwell ed.). John Wiley & Sons.

Sood, S. K., Salzman, M. B., Johnson, B. J., Happ, C. M., Feig, K., Carmody, L., Rubin, L. G., Hilton, E., & Piesman, J. (1997). Duration of tick attachment as a predictor of the risk of Lyme disease in an area in which Lyme disease is endemic. *J Infect Dis*, 175(4), 996-999.

<https://doi.org/10.1086/514009>

Sparks, T. C., Wessels, F. J., Lorsbach, B. A., Nugent, B. M., & Watson, G. B. (2019). The new age of insecticide discovery-the crop protection industry and the impact of natural products. *Pestic Biochem Physiol*, 161, 12-22. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.09.002>

Stafford, K. C. (2004). Tick management handbook : an integrated guide for homeowners, pest control operators, and public health officials for the prevention of tick-associated disease [Pamphlet (or booklet)]. <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/11444>

Stafford, K. C., 3rd. (1991). Effectiveness of host-targeted permethrin in the control of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol*, 28(5), 611-617.
<https://doi.org/10.1093/jmedent/28.5.611>

Stafford, K. C., 3rd. (1992a). Oviposition and larval dispersal of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol*, 29(1), 129-132. <https://doi.org/10.1093/jmedent/29.1.129>

Stafford, K. C., 3rd. (1992b). Third-year evaluation of host-targeted permethrin for the control of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) in southeastern Connecticut. *J Med Entomol*, 29(4), 717-720.
<https://doi.org/10.1093/jmedent/29.4.717>

Stafford, K. C., 3rd. (1993). Reduced abundance of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) with exclusion of deer by electric fencing. *J Med Entomol*, 30(6), 986-996.
<https://doi.org/10.1093/jmedent/30.6.986>

Stafford, K. C., 3rd, Denicola, A. J., & Kilpatrick, H. J. (2003). Reduced abundance of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) and the tick parasitoid *Ixodiphagus hookeri* (Hymenoptera: Encyrtidae) with reduction of white-tailed deer. *J Med Entomol*, 40(5), 642-652.
<https://doi.org/10.1603/0022-2585-40.5.642>

Stafford, K. C., 3rd, Denicola, A. J., Pound, J. M., Miller, J. A., & George, J. E. (2009). Topical treatment of white-tailed deer with an acaricide for the control of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in a Connecticut Lyme borreliosis hyperendemic Community. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 9(4), 371-379. <https://doi.org/10.1089/vbz.2008.0161>

Stafford, K. C., III, & Williams, S. C. (2017). Deer-targeted methods: a review of the use of topical acaricides for the control of ticks on white-tailed deer. *J Integr Pest Manag*, 8(1). <https://doi.org/10.1093/jipm/pmx014>

Stafford, K. C., Williams, S. C., van Oosterwijk, J. G., Linske, M. A., Zatechka, S., Richer, L. M., Molaei, G., Przybyszewski, C., & Wikel, S. K. (2020). Field evaluation of a novel oral reservoir-targeted vaccine against *Borrelia burgdorferi* utilizing an inactivated whole-cell bacterial antigen expression vehicle. *Exp Appl Acarol*, 80(2), 257-268. <https://doi.org/10.1007/s10493-019-00458-1>

Steere, A. C. (2020). Post-treatment Lyme disease syndromes: distinct pathogenesis caused by maladaptive host responses. *J Clin Investig*, 130(5), 2148-2151.

Steere, A. C., & Angelis, S. M. (2006). Therapy for Lyme arthritis: strategies for the treatment of antibiotic-refractory arthritis. *Arthritis Rheumatol*, 54(10), 3079-3086. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/art.22131>

Steere, A. C., Batsford, W. P., Weinberg, M., Alexander, J., Berger, H. J., Wolfson, S., & Malawista, S. E. (1980). Lyme carditis: cardiac abnormalities of Lyme disease. *Ann Intern Med*, 93(1), 8-16. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-93-1-8>

Steere, A. C., Grodzicki, R. L., Kornblatt, A. N., Craft, J. E., Barbour, A. G., Burgdorfer, W., Schmid, G. P., Johnson, E., & Malawista, S. E. (1983). The spirochetal etiology of Lyme disease. *N Engl J Med*, 308, 733-740. <https://doi.org/10.1056/nejm198303313081301>

Steere, A. C., Levin, R. E., Molloy, P. J., Kalish, R. A., Abraham Iii, J. H., Liu, N. Y., & Schmid, C. H. (1994). Treatment of Lyme arthritis. *Arthritis Rheumatol*, 37(6), 878-888. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/art.1780370616>

Steere, A. C., & Malawista, S. E. (1979). Cases of Lyme disease in the United States: locations correlated with distribution of *Ixodes dammini*. *Ann Intern Med*, 91(5), 730-733. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-91-5-730>

Steere, A. C., Sikand, V. K., Meurice, F., Parenti, D. L., Fikrig, E., Schoen, R. T., Nowakowski, J., Schmid, C. H., Laukamp, S., Buscarino, C., & Krause, D. S. (1998). Vaccination against Lyme disease with recombinant *Borrelia burgdorferi* outer-surface lipoprotein A with adjuvant. *N Engl J Med*, 339(4), 209-215. <https://doi.org/10.1056/nejm199807233390401>

Suppan, J., Engel, B., Marchetti-Deschmann, M., & Nürnberger, S. (2018). Tick attachment cement - reviewing the mysteries of a biological skin plug system. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 93(2), 1056-1076. <https://doi.org/10.1111/brv.12384>

Taenzler, J., Wengenmayer, C., Williams, H., Fourie, J., Zschiesche, E., Roepke, R. K. A., & Heckerroth, A. R. (2014). Onset of activity of fluralaner (Bravecto™) against *Ctenocephalides felis* on dogs. *Parasites & vectors*, 7(1), 567. <https://doi.org/10.1186/s13071-014-0567-6>

- Taieb, L., Ludwig, A., Ogden, N. H., Lindsay, R. L., Iranpour, M., Gagnon, C. A., & Bicout, D. J. (2020). Bird species involved in West Nile virus epidemiological cycle in southern Québec. *Int J Environ Res Public Health*, 17(12). <https://doi.org/10.3390/ijerph17124517>
- Tälleklint, L., & Jaenson, T. G. (1995). Is the small mammal (*Clethrionomys glareolus*) or the tick vector (*Ixodes ricinus*) the primary overwintering reservoir for the Lyme borreliosis spirochete in Sweden? *J Wildl Dis*, 31(4), 537-540. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-31.4.537>
- Taylor, L. H., & Woolhouse, M. E. J. (2001). Risk factors for human disease emergence. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 356(1411), 983-9. <https://doi.org/10.1098/rstb.2001.0888>
- Telford, S. R., 3rd, Mather, T. N., Adler, G. H., & Spielman, A. (1990). Short-tailed shrews as reservoirs of the agents of Lyme disease and human babesiosis. *J Parasitol*, 76(5), 681-683.
- Tilly, K., Bestor, A., & Rosa, P. A. (2016). Functional equivalence of OspA and OspB, but Not OspC, in tick colonization by *Borrelia burgdorferi*. *Infect Immun*, 84(5), 1565-1573. <https://doi.org/10.1128/iai.00063-16>
- Toutain, C. E., Seewald, W., & Jung, M. (2017). The intravenous and oral pharmacokinetics of lotilaner in dogs. *Parasit Vectors*, 10(1), 522. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2475-z>
- Toutain, C. E., Seewald, W., & Jung, M. (2018). Pharmacokinetics of lotilaner following a single oral or intravenous administration in cats. *Parasit Vectors*, 11(1), 412. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2966-6>
- Toutain, P. L., & Bousquet-Mélou, A. (2004). Plasma terminal half-life. *J Vet Pharmacol Ther*, 27(6), 427-439. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2004.00600.x>

Trollmo, C., Meyer, A. L., Steere, A. C., Hafler, D. A., & Huber, B. T. (2001). Molecular mimicry in Lyme arthritis demonstrated at the single cell level: LFA-1 alpha L is a partial agonist for outer surface protein A-reactive T cells. *J Immunol*, 166(8), 5286-5291.

<https://doi.org/10.4049/jimmunol.166.8.5286>

Troughton, D. R., & Levin, M. L. (2007). Life cycles of seven ixodid tick species (Acari: Ixodidae) under standardized laboratory conditions. *J Med Entomol*, 44(5), 732-740.

[https://doi.org/10.1603/0022-2585\(2007\)44\[732:lcosit\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1603/0022-2585(2007)44[732:lcosit]2.0.co;2)

Tsao, J., Barbour, A. G., Luke, C. J., Fikrig, E., & Fish, D. (2001). OspA immunization decreases transmission of *Borrelia burgdorferi* spirochetes from infected *Peromyscus leucopus* mice to larval *Ixodes scapularis* ticks. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 1(1), 65-74.

<https://doi.org/10.1089/153036601750137705>

Tsao, J. I. (2009). Reviewing molecular adaptations of Lyme borreliosis spirochetes in the context of reproductive fitness in natural transmission cycles. *Vet Res*, 40(2), 36.

<https://doi.org/10.1051/vetres/2009019>

Tsao, J. I., Wootton, J. T., Bunikis, J., Luna, M. G., Fish, D., & Barbour, A. G. (2004). An ecological approach to preventing human infection: vaccinating wild mouse reservoirs intervenes in the Lyme disease cycle. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101, 18159-18164.

<https://doi.org/10.1073/pnas.0405763102>

Ullmann, A. J., Dolan, M. C., Sackal, C. A., Fikrig, E., Piesman, J., & Zeidner, N. S. (2013).

Immunization with adenoviral-vectored tick salivary gland proteins (SALPs) in a murine model of

Lyme borreliosis. *Ticks Tick Borne Dis*, 4(1-2), 160-163.

<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2012.08.006>

Valneva. (2022). Valneva and Pfizer report six-month antibody persistence data in children and adults for Lyme Disease vaccine candidate. Valneva. En ligne : <https://valneva.com/press-release/valneva-and-pfizer-report-six-month-antibody-persistence-data-in-children-and-adults-for-lyme-disease-vaccine-candidate/>

Valneva. (2023). Pfizer and Valneva issue update on phase 3 clinical trial evaluating Lyme disease vaccine candidate VLA15. Valneva. En ligne : <https://valneva.com/press-release/pfizer-and-valneva-issue-update-on-phase-3-clinical-trial-evaluating-lyme-disease-vaccine-candidate-vla15/>

van den Wijngaard, C. C., Hofhuis, A., Harms, M. G., Haagsma, J. A., Wong, A., de Wit, G. A., Havelaar, A. H., Lugnér, A. K., Suijkerbuijk, A. W., & van Pelt, W. (2015). The burden of Lyme borreliosis expressed in disability-adjusted life years. *Eur J Public Health*, 25(6), 1071-1078. <https://doi.org/10.1093/eurpub/ckv091>

van Oosterwijk, J. G., & Wikel, S. K. (2021). Resistance to ticks and the Path to anti-tick and transmission blocking vaccines. *Vaccines*, 9(7), 725. doi: 10.3390/vaccines9070725

Villeneuve, A. (2012). Les tiques, mieux les connaître, mieux s'en protéger. Université de Montréal, Saint-Hyacinthe En ligne : <https://www.medvet.umontreal.ca/servicediagnostic/parasitologie/PDF/Les%20tiques.%20Mieux%20les%20conna%C3%A9tre%20et%20mieux%20s'en%20prot%C3%A9ger.pdf>

Voordouw, M. J. (2015). Co-feeding transmission in Lyme disease pathogens. *Parasitology*, 142(2), 290-302. <https://doi.org/10.1017/s0031182014001486>

Voordouw, M. J., Tupper, H., Onder, O., Devevey, G., Graves, C. J., Kemps, B. D., & Brisson, D. (2013). Reductions in human Lyme disease risk due to the effects of oral vaccination on tick-to-mouse and mouse-to-tick transmission. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 13(4), 203-214. <https://doi.org/10.1089/vbz.2012.1003>

Vredevoe, L. K., Stevens, J. R., & Schneider, B. S. (2004). Detection and characterization of *Borrelia bissettii* in rodents from the central California coast. *J Med Entomol*, 41(4), 736-745. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-41.4.736>

Waddell, L. A., Greig, J., Mascarenhas, M., Harding, S., Lindsay, R., & Ogden, N. (2016). The accuracy of diagnostic tests for Lyme disease in humans: a systematic review and meta-analysis of North American research. *PLoS One*, 11(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168613>

Walther, F. M., Allan, M. J., Roepke, R. K., & Nuernberger, M. C. (2014a). The effect of food on the pharmacokinetics of oral fluralaner in dogs. *Parasit Vectors*, 7, 84. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-84>

Walther, F. M., Allan, M. J., Roepke, R. K., & Nuernberger, M. C. (2014b). Safety of fluralaner chewable tablets (Bravecto™), a novel systemic antiparasitic drug, in dogs after oral administration. *Parasit Vectors*, 7, 87. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-87>

Walther, F. M., Paul, A. J., Allan, M. J., Roepke, R. K., & Nuernberger, M. C. (2014c). Safety of fluralaner, a novel systemic antiparasitic drug, in MDR1(-/-) Collies after oral administration. *Parasit Vectors*, 7, 86. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-86>

Wang, G., Van Dam, A. P., Le Fleche, A., Postic, D., Peter, O., Baranton, G., De Boer, R., Spanjaard, L., & Dankert, J. (1997). Genetic and phenotypic analysis of *Borrelia valaisiana* sp. nov. (*Borrelia* genomic groups VS116 and M19). *Int J Syst Bacteriol*, 47(4), 926-32. doi: 10.1099/00207713-47-4-926

Wang, G., van Dam, A. P., Schwartz, I., & Dankert, J. (1999a). Molecular typing of *Borrelia burgdorferi sensu lato*: taxonomic, epidemiological, and clinical implications. *Clin Microbiol Rev*, 12(4), 633-53. doi: 10.1128/CMR.12.4.633

Wang, I. N., Dykhuizen, D. E., Qiu, W., Dunn, J. J., Bosler, E. M., & Luft, B. J. (1999b). Genetic diversity of ospC in a local population of *Borrelia burgdorferi sensu stricto*. *Genetics*, 151(1), 15-30. <https://doi.org/10.1093/genetics/151.1.15>

Wengenmayer, C., Williams, H., Zschiesche, E., Moritz, A., Langenstein, J., Roepke, R. K. A., & Heckerroth, A. R. (2014). The speed of kill of fluralaner (Bravecto™) against *Ixodes ricinus* ticks on dogs. *Parasit Vectors*, 7, 525. <https://doi.org/10.1186/s13071-014-0525-3>

Werden, L., Barker, I. K., Bowman, J., Gonzales, E. K., Leighton, P. A., Lindsay, L. R., & Jardine, C. M. (2014). Geography, deer, and host biodiversity shape the pattern of Lyme disease emergence in the Thousand Islands Archipelago of Ontario, Canada. *PLoS One*, 9(1), e85640. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085640>

Whalon, M., Mota-Sanchez, D., & Hollingworth, R. (Eds.). (2008). *Global pesticide resistance in arthropods*. CABI Internationnal.

Wikel, S. (2013). Ticks and tick-borne pathogens at the cutaneous interface: host defenses, tick countermeasures, and a suitable environment for pathogen establishment. *Front Microbiol*, 4, 337. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00337>

Will, G., Jauris-Heipke, S., Schwab, E., Busch, U., Rössler, D., Soutschek, E., Wilske, B., & Preac-Mursic, V. (1995). Sequence analysis of OspA genes shows homogeneity within *Borrelia burgdorferi sensu stricto* and *Borrelia afzelii* strains but reveals major subgroups within the *Borrelia garinii* species. *Med Microbiol Immunol*, 184(2), 73-80. <https://doi.org/10.1007/bf00221390>

Williams, S. C., Little, E. A. H., Stafford, K. C., Molaei, G., & Linske, M. A. (2018b). Integrated control of juvenile *Ixodes scapularis* parasitizing *Peromyscus leucopus* in residential settings in Connecticut, United States. *Ticks Tick Borne Dis*, 9(5), 1310-1316. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.05.014>

Williams, S. C., Stafford, K. C., 3rd, Molaei, G., & Linske, M. A. (2018a). Integrated control of nymphal *Ixodes scapularis*: effectiveness of white-tailed deer reduction, the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*, and fipronil-based rodent bait boxes. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 18(1), 55-64. <https://doi.org/10.1089/vbz.2017.2146>

Wilske, B., Preac-Mursic, V., Göbel, U. B., Graf, B., Jauris, S., Soutschek, E., Schwab, E., & Zumstein, G. (1993). An OspA serotyping system for *Borrelia burgdorferi* based on reactivity with monoclonal antibodies and OspA sequence analysis. *J Clin Microbiol*, 31(2), 340-350. <https://doi.org/10.1128/jcm.31.2.340-350.1993>

Wilson, M. L., Adler, G. H., & Spielman, A. (1985). Correlation between abundance of deer and that of the deer tick, *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). *Ann Entomol Soc Am*, 78, 172-176.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1093/aesa/78.2.172>

Wilson, M. L., Levine, J. F., & Spielman, A. (1984). Effect of deer reduction on abundance of the deer tick (*Ixodes dammini*). *Yale J Biol Med*, 57(4), 697-705.

Wilson, M. L., & Spielman, A. (1985). Seasonal activity of immature *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol*, 22(4), 408-414. <https://doi.org/10.1093/jmedent/22.4.408>

Wilson, M. L., Telford, S. R., 3rd, Piesman, J., & Spielman, A. (1988). Reduced abundance of immature *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) following elimination of deer. *J Med Entomol*, 25(4), 224-228. <https://doi.org/10.1093/jmedent/25.4.224>

Wodecka, B., & Skotarczak, B. (2005). First isolation of *Borrelia lusitaniae* DNA from *Ixodes ricinus* ticks in Poland. *Scand J Infect Dis*, 37(1), 27-34.

<https://doi.org/10.1080/00365540410026059>

Wolcott, K. A., Margos, G., Fingerle, V., & Becker, N. S. (2021). Host association of *Borrelia burgdorferi sensu lato*: a review. *Ticks Tick Borne Dis*, 12(5), 101766.

<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101766>

Wormser, G. P., Dattwyler, R. J., Shapiro, E. D., Halperin, J. J., Steere, A. C., Klempner, M. S., Krause, P. J., Bakken, J. S., Strle, F., Stanek, G., Bockenstedt, L., Fish, D., Dumler, J. S., & Nadelman, R. B. (2006). The clinical assessment, treatment, and prevention of Lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*, 43(9), 1089-1134. <https://doi.org/10.1086/508667>

Wormser, G. P., Nadelman, R. B., Nowakowski, J., & Schwartz, I. (2001). Asymptomatic *Borrelia burgdorferi* infection. *Med Hypotheses*, 57(4), 435-438.

<https://doi.org/10.1054/mehy.2001.1338>

Xiao, F. Z., Zhang, Y., Deng, Y. Q., He, S., Xie, H. G., Zhou, X. N., & Yan, Y. S. (2014). The effect of temperature on the extrinsic incubation period and infection rate of dengue virus serotype 2 infection in *Aedes albopictus*. *Arch Virol*, 159(11), 3053-3057. <https://doi.org/10.1007/s00705-014-2051-1>

Young, G. D., & Evans, S. (1998). Safety and efficacy of DEET and permethrin in the prevention of arthropod attack. *Mil Med*, 163(5), 324-330.

Yuval, B., & Spielman, A. (1990). Duration and regulation of the developmental cycle of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol*, 27(2), 196-201.

<https://doi.org/10.1093/jmedent/27.2.196>

Zhang, X., Meltzer, M. I., Peña, C. A., Hopkins, A. B., Wroth, L., & Fix, A. D. (2006). Economic impact of Lyme disease. *Emerg Infect Dis*, 12(4), 653-660.

<https://doi.org/10.3201/eid1204.050602>

Zhou, G., Xu, X., Zhang, Y., Yue, P., Luo, S., Fan, Y., Chen, J., Liu, M., Dong, Y., Li, B., Kong, J., Wen, S., Liu, A., & Bao, F. (2021b). Antibiotic prophylaxis for prevention against Lyme disease following tick bite: an updated systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis*, 21(1), 1141. <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06837-7>

Zhou, X., Hohman, A. E., & Hsu, W. H. (2021a). Current review of isoxazoline ectoparasiticides used in veterinary medicine. *J Vet Pharmacol Ther*, 45(1), 1-15.

<https://doi.org/10.1111/jvp.12959>

Annexes

Annexe 1

Supplementary Table 1. Small mammal sampling effort by year and by zone

Year	Period ^A	Zone	Traps by plots	No of traps ^B	No of nights	No of trap nights ^C	No of animals ^D
2016	Tx	C	35	140	4	560	23
		T1	35	140	4	560	21
2017	Pre-Tx	C	25	100	8	800	28
		T1	25	100	10	1000	31
		T2	25	75	10	750	13
	Tx	C	25	100	4	400	20
		T1	25	100	3	300	24
		T2	25	75	5	375	17
2018	Pre-Tx	C	25	100	7	700	27
		T1	25	100	9	900	36
		T2	25	75	8	600	23
	Tx	C	25	100	2	200	22
		T1	25	100	5	500	30
		T2	25	75	5	375	25

^APre-Tx = period of capture before treatment deployment and Tx = period of capture during treatment deployment.

^BThe number of active traps by plots multiplied by the number of plots by zone (4 in zone C and T1 and 3 in zone T2).

^CThe number of traps multiplied by the number of capture nights.

^DThe number of first captured animals (all species) during the sampling period.

Supplementary Table 2. Descriptive data of *I. scapularis* tick infestation of *Peromyscus* mice aggregated by zone and period of capture

Period ^A	Variables	2016		2017			2018		
		C	T1	C	T1	T2	C	T1	T2
Pre-Tx	No of mice captured			28	28	13	27	28	23
	No of larvae			202	497	164	119	185	234
	Average larva count (range) ^B			7.2 (2 - 35)	17.8 (1 - 55)	12.6 (3 - 35)	4.4 (0 - 21)	6.6 (0 - 18)	10.2 (1 - 27)
	QL ^C			10.5	24.5	27.3	6.5	12.2	22.2
	No of nymphs			73	79	24	26	29	40
	Average nymph count (range) ^B			2.6 (0 - 17)	5.4 (0 - 24)	1.8 (0 - 10)	1.0 (0 - 5)	1.0 (0 - 5)	0.6 (0 - 8)
	QN ^C			6.4	8.3	12.9	2.8	4.0	2.9
Tx	No of mice captured	19	18	20	23	16	22	24	25
	No of larvae	74	45	342	96	274	162	60	87
	Average larva count (range) ^B	3.7 (0 - 7)	2.5 (0 - 10)	17.1 (1 - 55)	4.2 (0 - 20)	17.1 (0 - 64)	13.6 (0 - 50)	2.5 (0 - 13)	10.2 (0 - 23)
	QL ^C	5.0	9.8	75.0	43.7	63.5	53.6	112.8	261.8
	No of nymphs	16	13	13	4	15	4	2	4
	Average nymph count (range) ^B	0.8 (0 - 4)	0.7 (0 - 2)	0.7 (0 - 3)	0.2 (0 - 1)	0.9 (0 - 6)	0.2 (0 - 1)	0.1 (0 - 1)	0.2 (0 - 1)
	QN ^C	4.8	8.3	5.1	5.0	6.0	1.9	1.8	2.6

^APre-Tx = period of capture before treatment deployment and Tx = period of capture during treatment deployment.

^BThe total number of feeding larvae (FL) or nymphs (FN) divided by the number of mice contributing to the count.

^CThe mean density per 100m² of host-seeking larvae (QL) or nymph (QN).

Supplementary Table 3. Comparison of competitive models for the number of immature ticks per mouse

Stage	Models	Df ^A	AIC ^B	Log likelihood	Deviance
FL	1a: $fl \sim \dots + \text{season}$	14	1711.1	-841.55	1683.1
	2a: $fl \sim \dots + \text{density of host-seeking larvae}$	14	1722.2	-847.12	1694.2
FN	2a: $fn \sim \dots + \text{year}$	8	792.8	-388.39	776.76
	2b: $fn \sim \dots + \text{density of host-seeking nymphs}$	7	796.6	-391.32	782.64

^ADegrees of freedom

^BAkaike information criterion

Annexe 2

Extraction of DNA and amplification of the rRNA-23S and OspA genes

DNA was extracted from nymphs and mice biopsies using the DNeasy Blood & Tissue kit (Qiagen, Hilden, Germany) following the manufacturer's protocol. The extracted DNA was then quantified using the Cytation 5 machine (Biotek, Winooski, VT, USA). The DNA was stored at -20 °C until PCR testing.

To test for the presence of *Borrelia* spp., we first screened the samples using primers that amplify the *rRNA-23S* gene (Courtney et al. 2004). Positive samples were subsequently tested for the presence of *B. burgdorferi* using primers that amplify the *OspA* gene (Tokarz et al. 2017). The final PCR solutions contained between 10-30 ng/μL of extracted genomic DNA and 10 nM of *23S-rRNA* or *OspA* primers (Integrated DNA Technologies, Coralville, IA, USA). For *Borrelia* spp. screening, PCR was performed using 10X Taq polymerase (Bio Basic, Markham, ON, Canada) in a Proflex PCR System (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA). The amplification conditions are described in Table P1. PCR products were electrophoretically resolved in 1 X TE, 2% agarose gels stained with 6X orange DNA loading dye (Thermo scientific, Vilnius, Lithuania). Images were captured using a ChemiDoc MP Imaging System (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) and positive samples were identified by the presence of a 75 bp band.

Table P1. Amplification conditions of the 23S-rRNA PCR reaction

Phase		Temperature (°C)	Time	Number of cycles
Polymerase activation		95	2 m	1
Amplification	Denaturation	95	20 s	35
	Annealing	60	40 s	
	Extension	72	8 s	

m = minutes, s = seconds.

To identify *B. burgdorferi*, qPCR was performed using 1X iTaq Universal SYBR Green Supermix (Bio-Rad Laboratories) and *OspA* primers on the CFX Opus 96 real-time PCR system (Bio-Rad Laboratories). The reaction conditions are listed in Table P2. Fluorescence was measured after each amplification cycle. At the end of the amplification phase of the *OspA* assay, a melting curve was set up from 56 °C to 95 °C with a 0.5 °C increase every 5s to confirm that the amplified DNA was the target gene. A test was confirmed positive when the quantification threshold was reached within 30 amplification cycles and a melting peak was detected at 76 °C. Samples were tested with negative control (sterile water) and positive control (1 pg of a gene fragment from gBlocks™; Integrated DNA Technologies).

Table P2. Amplification conditions of the *OspA* qPCR reaction

Phase		Temperature (°C)	Time	Number of cycles
Polymerase activation		95	3 m	1
Amplification	Denaturation	95	10 s	39
	Annealing	60	10 s	
	Elongation	56	5 s	

m = minutes; s = seconds.

References

Courtney, J. W., L. M. Kostelnik, N. S. Zeidner, and R. F. Massung. 2004. Multiplex real-time PCR for detection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi*. J Clin Microbiol 42: 3164-3168.

Tokarz, R., T. Tagliafierro, D. M. Cucura, I. Rochlin, S. Sameroff, and W. I. Lipkin. 2017. Detection of *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia microti*, *Borrelia burgdorferi*, *Borrelia miyamotoi*, and Powassan virus in ticks by a Multiplex real-time reverse transcription-PCR assay. *mSphere* 19;2(2):e00151-17.

Annexe 3

Supplementary Table 4. Results of univariate test between covariates and mouse infection by *B.*

burgdorferi

Variables	Description	χ^2	Df	P-value	VIF CI95
Year	3 levels factor	1.54	2	0.463	Excluded
Zone	3 levels factor	9.51	2	0.009	2.32 - 3.41
Period	Binary	6.40	1	0.011	1.00 - 2.01
Age	Binary	54.74	1	< 0.001	1.00 - 2.49
Sex	Binary	0.30	1	0.584	Excluded
Plots	11 levels factor	14.21	10	0.164	Random

CI95 = 95% confidence interval, Df = Degree of freedom, VIF = variance inflation factor.

Supplementary Table 5. Results of univariate test between covariates and the density of nymphs

Variables	Description	χ^2	Df	P-value	VIF CI95
Year	4-level factor	77.82	3	< 0.001	8.09 - 11.05
Month	4-level factor	373.00	3	< 0.001	1.01 - 1.34
Zone	3-level factor	37.60	2	< 0.001	2.50 - 3.28
Cohort	Binary	13.13	1	< 0.001	1.50 - 1.89
Plot	11-level factor	37.00	10	< 0.001	Random

CI95 = 95% confidence interval, Df = Degree of freedom, VIF = variance inflation factor.

Supplementary Table 6. Results of univariate test between covariates and the prevalence of *B.*

***burgdorferi*-infected nymphs**

Variables	Description	χ^2	Df	P-value	VIF CI95
Year	4-level factor	30.81	3	< 0.001	5.66 - 5.54
Month	4-level factor	11.53	3	0.009	1.09 - 1.22
Zone	3-level factor	1.88	2	0.390	Excluded
Plot	11-level factor	37.00	10	0.129	Random

CI95 = 95% confidence interval, Df = Degree of freedom, VIF = variance inflation factor.

Annexe 4

Necropsy procedure

Following euthanasia, mice from group CD1-4, CD1-5, CD1-6 and CD1-7 were necropsied according to the following systematic procedure:

1. Mice were weighted before dissection.
2. Skin was removed.
3. Salivary glands and mandibular lymph nodes were extracted.
4. Abdominal cavity was opened:
5. Heart, liver, the 2 kidneys and spleen were weighted extracted and weighted.
6. Reproductive tract, adrenal gland and digestive organs were extracted.
7. Formaldehyde 10% were injected in gut lumen.
8. Thoracic cavity was opened.
9. Respiratory tract was extracted with tongue, larynx and thyroid gland.
10. Formaldehyde 10% were injected in lungs to avoid atelectasis.
11. Mice head and right pelvic members were reserved for brain, nerves and muscles analyses.

During the procedure and before organs extraction, macroscopic observations were noted.

Organs and body parts were preserved in designated container for each individual with formaldehyde 10%.