

Université de Montréal

Éco-épidémiologie de la maladie de Lyme dans le Sud-Ouest du Québec: étude des facteurs
environnementaux associés à son établissement

par

Catherine Bouchard

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 doctorat de philosophiae doctor (Ph.D.)
en sciences vétérinaires
option épidémiologie

Septembre, 2013

© Catherine Bouchard, 2013

Résumé

Depuis les années 90, les études réalisées au Canada ont permis d'identifier de nouvelles zones endémiques de l'agent de la maladie de Lyme, *Borrelia burgdorferi*, ou de sa tique vectrice, *Ixodes scapularis*. Ces régions représentent des zones privilégiées pour étudier le cycle de transmission dans son contexte environnemental. L'objectif principal de ce projet est d'étudier les relations spirochètes – tiques - hôtes et les facteurs environnementaux impliqués dans le cycle de transmission à partir des données du vecteur et de l'agent pathogène recueilli dans le Sud-Ouest du Québec de 2007 à 2008.

Tout d'abord sera décrite la saisonnalité des tiques et des associations entre le vecteur et les hôtes rongeurs capturés. En effet, l'identification de la saisonnalité spécifique à chaque stade de la tique *I. scapularis* permet d'établir quels seront les mois propices pour effectuer les futures collectes de tiques. La saisonnalité synchrone des tiques immatures en quête peut également être un indicateur de la nature ou des souches de *B. burgdorferi* retrouvées. L'association des tiques immatures à différentes espèces ou à différentes classes d'hôtes (c.-à-d. âge, sexe, statut reproductif) a également été explorée. Nos résultats montrent que les souris du genre *Peromyscus*, principalement les mâles adultes, contribuent significativement à la survie et au développement du complexe *I. scapularis* - *B. burgdorferi*. Les tamias et les écureuils contribuent aussi à la survie et au développement des populations de la tique *I. scapularis*.

Ensuite les associations entre le vecteur et les hôtes cervidés ont été examinées en tenant compte des facteurs environnementaux associés à leur niveau d'infestation. Ceci a permis d'évaluer

l'utilisation des cerfs à titre de sentinelles pour le vecteur et les agents pathogènes. D'après nos résultats, bien qu'ils soient des sentinelles efficaces pour détecter *Anaplasma phagocytophilum*, les cerfs semblent des sentinelles inefficaces pour détecter les zones d'établissement du complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi*.

Enfin, une analyse de l'impact de la diversité des hôtes et de l'habitat sur l'abondance de la tique *I. scapularis* et la prévalence de *B. burgdorferi* a été effectuée et ce, en tenant compte d'autres facteurs environnementaux. Ces analyses ont permis de déterminer les facteurs critiques pour l'établissement du complexe *I. scapularis* – *B. burgdorferi* et d'explorer la contribution relative de diverses espèces d'hôtes. D'après nos études, la diversité de la communauté d'hôte et la diversité de l'habitat influencent le complexe *I. scapularis* - *B. burgdorferi*. De plus, le climat (la température et les précipitations) joue un rôle significatif dans l'établissement, la survie et le développement des populations d'*I. scapularis*.

Ce projet de recherche a permis d'explorer et d'identifier divers facteurs environnementaux biotiques et abiotiques influençant l'établissement du complexe *I. scapularis* - *B. burgdorferi* dans le Sud-Ouest du Québec. Ceux-ci pourraient être utilisés à titre d'indicateurs environnementaux du risque de la maladie de Lyme au Québec et possiblement ailleurs au Canada.

Mots-clés : Maladie de Lyme, éco-épidémiologie, facteurs environnementaux, *Ixodes scapularis*, *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, micromammifères, cerfs, Québec

Abstract

Since the 90s in Canada, studies have identified new endemic areas for the agent of Lyme disease, *Borrelia burgdorferi* and the tick vector, *Ixodes scapularis*. These newly endemic areas for complex *I. scapularis* - *B. burgdorferi* are prime areas to study the transmission cycle in its environmental context. The main objective of this project is to study the spirochete-tick-host relationships and environmental factors involved in the transmission cycle from the data of the vector and the pathogen collected in southwestern Quebec, 2007 to 2008.

First, a description of the seasonality of ticks and associations between the vector and captured rodent hosts was performed. The identification of specific seasonality at each stage of the tick *I. scapularis* establishes months conducive to make the future collections of ticks. Synchronous seasonality of questing immature ticks may also be an indicator of the nature or strain of *B. burgdorferi* found. In addition, the association of immature ticks in different species or different classes of hosts (i.e. age, sex, reproductive status) was explored. The *Peromyscus* mice and adult males in particular contributed significantly to the survival and development of complex *I. scapularis*-*B. burgdorferi*. Chipmunks and squirrels also contributed to the survival and development of *I. scapularis* populations.

Second, the associations between vector and examined deer was described taking into account the environmental factors associated with the level of infestation and the use of deer as sentinels for the vector and the pathogen was evaluated. According to our results, the deer are effective sentinels to

detect *Anaplasma phagocytophilum*, but seem ineffective or imprecise to detect endemic areas for complex *I. scapularis*-*B. burgdorferi*.

Finally, an analysis of the impact of the host diversity and habitat on the abundance of *I. scapularis* and prevalence of *B. burgdorferi* considering other environmental factors was performed. These analyzes were used to determine the critical factors in the establishment of complex *I. scapularis*-*B. burgdorferi* and explore the relative contribution of various host species. According to our studies, the diversity of the host community and habitat influences the complex *I. scapularis*-*B. burgdorferi*. On the other hand, the climate (temperature and precipitation) plays a significant role in the establishment, survival and development of the *I. scapularis* populations.

This study allowed us to explore and identify various biotic and abiotic environmental factors influencing the establishment of complex *I. scapularis*-*B. burgdorferi* in southwestern Quebec. These environmental factors could be used as environmental indicators of the risk of Lyme disease in Quebec and possibly elsewhere in Canada.

Keywords : Lyme disease, eco-epidemiology, environmental factors, *Ixodes scapularis*, *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, rodents, deer, Quebec

Table des matières

RÉSUMÉ	I
ABSTRACT	III
TABLE DES MATIÈRES	V
LISTE DES TABLEAUX	X
LISTE DES FIGURES	XII
LISTE DES SIGLES ET DES ABRÉVIATIONS	XIV
REMERCIEMENTS	XVII
INTRODUCTION	1
L'émergence des maladies vectorielles	1
L'émergence de la maladie de Lyme	3
L'éco-épidémiologie de la maladie de Lyme	4
OBJECTIFS	7
RECENSION DES ÉCRITS	10
La maladie de Lyme chez l'Homme	11
Symptomatologie	11
Diagnostic, traitement et prévention	12
L'épidémiologie de la maladie de Lyme	14

Incidence aux États-Unis	15
Incidence au Canada	15
Le spirochète	17
<i>B. burgdorferi sensu lato</i>	18
Génome de <i>B. burgdorferi</i>	19
Interactions spirochètes-tiques-hôtes	19
La tique vectrice	21
Famille <i>Ixodidae</i>	22
Interactions de la tique <i>I. scapularis</i> avec son environnement	22
<i>I. scapularis</i> comme vecteur de <i>B. burgdorferi</i>	26
Les hôtes	27
Les mammifères sauvages	28
Les oiseaux migrateurs	31
Les facteurs environnementaux	33
Facteurs biotiques et impact de la biodiversité	33
Facteurs abiotiques	36
Tableaux	38
EXPOSÉ ET ANALYSE DES RÉSULTATS	47
Article 1: Associations between <i>Ixodes scapularis</i> ticks and small mammal hosts in a newly-endemic zone in southeastern Canada: implications for <i>Borrelia burgdorferi</i> transmission	48
Abstract	49
Introduction	50
Materials and methods	51
Study areas	51
Wild small mammal trapping	52
Blood and tick collection and detection of <i>B. burgdorferi</i> infection.	53
Statistical analyses	54

Results	57
Wild small mammal trapping and tick collection	57
<i>B. burgdorferi</i> infection in wild small mammals and their tick ectoparasites	57
Host associations of <i>I. scapularis</i>	58
Analysis of the intensity of infestation on <i>I. scapularis</i> -positive sites	59
Discussion	61
Acknowledgements	65
References	66
Figures	71
Tables	74
Article 2: Harvested white-tailed deer as sentinel hosts for early establishing <i>Ixodes scapularis</i> populations and risk from vector-borne zoonoses in southeastern Canada	78
Abstract	79
Introduction	80
Materials and Methods	82
Study site	82
Deer examination and tick collection	82
Diagnostic tests for tick-associated pathogens	83
Environmental determinants	84
Data on <i>I. scapularis</i> tick and tick population occurrence	85
Statistical analyses of tick infestation levels of deer	87
Spatial cluster analysis	89
Results	89
Statistical analyses: Models of tick infestation levels of deer	90
Spatial cluster analysis	91
Discussion	92
Conclusion	94

Acknowledgements	95
References	96
Figures	103
Tables	106
Article 3: Does high biodiversity reduce the risk of Lyme disease invasion?	111
Abstract	112
Introduction	114
Methods	116
Study sites	116
Collection and sampling of ticks and captured mammals	117
Testing of tick and rodent samples for <i>B. burgdorferi</i> infection	118
Collection and development of explanatory variables (see Table XIX)	118
Accounting for rates of <i>I. scapularis</i> and <i>B. burgdorferi</i> immigration	121
Statistical analyses	122
Results and discussion	123
Tick abundance and <i>B. burgdorferi</i> infection	123
Associations of explanatory variables with the abundance of <i>I. scapularis</i> and <i>B. burgdorferi</i> occurrence	124
Variables associated with <i>I. scapularis</i> and <i>B. burgdorferi</i> immigration	128
Conclusions	129
Acknowledgements	130
References	131
Figures	139
Tables	140
DISCUSSION GÉNÉRALE	147
Les notions d'établissement, d'endémicité et d'émergence	148

Réflexions sur les principaux résultats	148
i) Introduction du complexe <i>I. scapularis</i> - <i>B. burgdorferi</i>	153
ii) Établissement du complexe <i>I. scapularis</i> - <i>B. burgdorferi</i>	154
Limites	159
Directions futures et recommandations	161
Implications pour la santé publique vétérinaire	161
CONCLUSIONS	167
BIBLIOGRAPHIE	169
ANNEXE	I
Comité d'éthique de l'utilisation des animaux	ii

Liste des tableaux

Tableau I. Distribution géographique de <i>B. burgdorferi</i> s.l. en Amérique du Nord.....	38
Tableau II. Espèces des tiques vectrices de maladies transmissibles à l'homme en Amérique du Nord	39
Tableau III. Mammifères sauvages étant des hôtes de la tique <i>I. scapularis</i> et de la bactérie <i>B. burgdorferi</i> dans l'Est de l'Amérique du Nord	40
Tableau IV. Hôtes aviaires de la tique <i>I. scapularis</i> et de la bactérie <i>B. burgdorferi</i> dans l'Est de l'Amérique du Nord	42
Tableau V. Sommaire de la littérature sur les associations statistiquement significatives entre le cycle de transmission de la maladie de Lyme et les facteurs environnementaux en Amérique du Nord	45
Table VI. Wild small mammals captured and examined for ticks in southwestern Quebec, 2007-2008	74
Table VII. Number of seropositive rodents for <i>B. burgdorferi</i> infection and host infestation by <i>Ixodes scapularis</i> collected from wild small mammals captured in southwestern Québec, 2007-2008 .	75
Table VIII. Statistically significant explanatory variables in mixed effects regression models in which the number of immature <i>I. scapularis</i> parasitizing captured mammals was the outcome variable	76
Table IX. <i>Ixodes scapularis</i> infestations from different sex and age groups of harvested deer in 2007- 2008, in southwestern Quebec	106
Table X. Prevalence of vector-borne zoonoses in adult <i>I. scapularis</i> collected from white-tailed deer in southwestern Quebec, 2007-2008.	107

Table XI. The AIC and degrees of freedom (df) for the Poisson GLM, NB GLM, ZIP and ZINB models for each final statistical model	108
Table XII. The variables, parameter estimates (β), standard errors (SE), z-values and p-values for three negative binomial generalized linear models in which the number of <i>I. scapularis</i> parasitizing harvested white-tailed deer was the outcome variable.....	109
Table XIII. Summary of spatial cluster analysis for <i>I. scapularis</i> -infested deer and deer carrying <i>A. phagocytophilum</i> -infected ticks sampled in southwestern Quebec.....	110
Table XIV. Number and <i>B. burgdorferi</i> infection status (Bb+) of questing and feeding ticks in three regions of southwestern Quebec, 2007-2008.....	140
Table XV. Number of rodents of each species captured during the study, and their infestations by immature <i>I. scapularis</i> . Reproduced with permission from Bouchard et al. (2011).....	141
Table XVI. The variables, parameter estimates (β), standard errors (SE), z-values and p-values for two negative binomial generalized linear models of the count of questing and feeding ticks collected in southwestern Quebec, 2007-2008	142
Table XVII. The variables, parameter estimates (β), standard errors (SE), t-values and p-values for a linear regression model of the count of <i>Peromyscus</i> species captured in southwestern Quebec, 2007-2008	143
Table XVIII. The variables, parameter estimates (β), standard errors (SE), t-values and p-values for a logistic regression model of the occurrence of <i>B. burgdorferi</i> infection in feeding ticks collected in southwestern Quebec, 2007-2008	144
Table XIX. Description of environmental variables that were used in the statistical models.	145

Liste des figures

Figure 1. Éco-épidémiologie de la maladie de Lyme : les relations spirochètes-tiques-hôtes et les facteurs environnementaux impliqués dans le cycle de transmission. Le triangle rouge illustre le foyer (nid) de transmission à la jonction des interactions spirochètes-tiques-hôtes dans un environnement propice, inspiré de Reisen 2010.....	6
Figure 2. Saisonnalité des trois stades de la tique <i>I. scapularis</i> dans la quête d'hôtes (inspiré de Kurtenbach et al. 2006). L'axe des Y représente l'activité relative des tiques en quête d'hôtes sur une échelle arbitraire.	24
Figure 3. Occurrence of <i>I. scapularis</i> ticks from the 71 sites visited during the active field surveillance for Lyme disease in southwestern Quebec, 2007-2008.....	71
Figure 4. Estimated densities of adult, subadult and juvenile <i>Peromyscus</i> spp. by month (cumulative data from 2007-2008 first visits and 2008 revisits). Estimated densities represent the number of captured mice per night per km ² at each visit	72
Figure 5. Seasonality in the mean infestation of captured mammals with immature <i>I. scapularis</i> (i.e. average number of ticks per captured host (per night per km ² at each visit)).....	73
Figure 6. Distribution of harvested white-tailed deer sampled in southwestern Quebec, 2007-2008	103
Figure 7. Spatial clusters of deer infested (≥ 2 ticks) and census subdivisions in which active surveillance occurred in southwestern Quebec in 2007 and 2008 are also shown shaded dark gray if they contained an <i>I. scapularis</i> population and light gray if no tick population was found	104
Figure 8. Spatial cluster of <i>A. phagocytophilum</i> collected from infested white-tailed deer in southwestern Quebec, 2007-2008.....	105

Figure 9. *Ixodes scapularis* and *B. burgdorferi* occurrence at the 71 sites in southwestern Quebec,
2007-2008 139

Liste des sigles et des abréviations

°C: Degré Celsius

AIC: *Akaike's information criterion*

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

AUC: *Area under curve*

CDC : *Centers for Disease Control and Prevention*

CSD: *Census subdivision*

DD: *Degree-day*

DNA: *Deoxyribonucleic acid*

EC : Environnement Canada

EDTA: *Ethylenediaminetetraacetic acid*

ELISA: *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

GLM: *Generalized linear model*

GPS : *Global positioning system*

HGA: *Human granulocytic anaplasmosis*

IDW: *Inverse distance weighting*

IGS: *Intergenic spacer*

INSPQ : Institut national de santé publique du Québec

LR : *Likelihood ratio*

LSPQ : Laboratoire de santé publique du Québec

MDDEP : Ministère du développement durable, environnement, faune et parcs du Québec

MMWR : *Morbidity and mortality weekly report*

MRNF: Ministère des ressources naturelles de la faune du Québec

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

NML: *National microbiology laboratory*

OMS : Organisation mondiale de la santé

OSP: *Outer surface protein*

PCR: *Polymerase chain reaction*

ROC: *Receiver operating characteristics*

RR : *Relative risk*

RST: *Ribosomal spacer type*

SE: *Standard error*

SIEF: Système d'information écoforestière

SIG-GIS : Système d'information géographique – *Geographic information system*

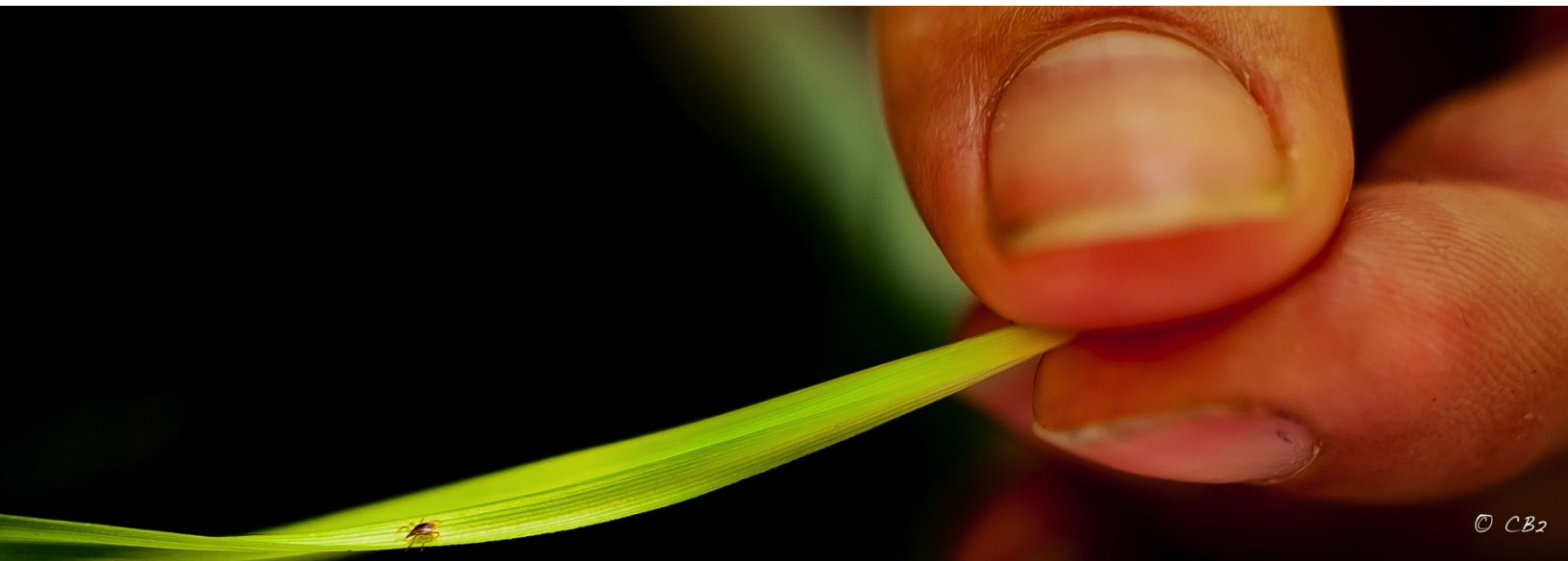
TROSPA : Récepteur de la tique à la protéine de surface A

USA : *United states of America*

VNO : Virus du Nil Occidental

ZINB: *Zero-inflated negative binomial*

ZIP: *Zero-inflated Poisson*



À mes loups.

« Quel plaisir de pouvoir laisser des traces sur une surface immaculée. De tracer une carte de mes pas... Peu importe si c'est temporaire. » - C. Thompson, Blankets

Remerciements

Une fleur de reconnaissance va à mon directeur de recherche, le Dr Nicholas Ogden pour son importante contribution, son regard scientifique, critique et constructif tout au long de mon cheminement.

Une fleur de reconnaissance va à ma codirectrice de recherche, la Dre Denise Bélanger, pour son encadrement pédagogique, son regard scientifique, ainsi que pour ses conseils qui ont contribué à rehausser la qualité de mon travail.

Un grand merci au Dr François Milord, Dre Louise Trudel, Dr Guy Beauchamp, Dr Patrick Leighton, Dre Soulyvane Nguon, Dr Robbin Lindsay, Dr André Ravel, Dr Michel Bigras-Poulin et à la Dre Kateryn Rochon qui ont participé au développement et à l'amélioration de cette thèse.

Merci à la « communauté » du GREZOSP et le soutien de ceux qui ont pris part à ce projet à travers nos discussions ou votre soutien technique.

Un merci particulier à ma famille, belle-famille et ami(e)s pour votre présence dans ma vie.

Je tiens enfin à souligner le soutien financier de l'Université de Montréal, de l'Agence de la santé publique du Canada et de l'Institut national de santé publique du Québec.

Introduction

L'émergence des maladies vectorielles

Les maladies à transmission vectorielle sont des maladies pour lesquelles l'agent pathogène (virus, bactérie ou parasite) est transmis d'un hôte infecté (un hôte vertébré) à un autre par l'intermédiaire d'un vecteur (insecte, tique) hématophage. Depuis plus de dix ans, les maladies à transmission vectorielle représentent près de 30% des maladies infectieuses (ré) émergentes à l'échelle mondiale (Jones et al. 2008). À titre d'exemple, il faut souligner l'expansion vers le Nord du virus de la fièvre catarrhale du mouton dans le bassin méditerranéen (Purse et al. 2005) ainsi que l'introduction du virus Chikungunya en Italie (Angelini et al. 2008, Bonilauri et al. 2008) ou du virus du Nil Occidental aux États-Unis (Glaser 2004). Le Canada et les États-Unis ont également vu la maladie de Lyme émerger puis s'étendre sur une grande partie de leur territoire (Hamer et al. 2010, Leighton et al. 2012, Ogden et al. 2013). Au Canada, les maladies vectorielles zoonotiques d'intérêts sont la maladie de Lyme, l'anaplasmose, la babésiose, les encéphalites arbovirales (ex. : virus du Nil Occidental, encéphalite équine de l'Est, encéphalite de St-Louis, encéphalite de La Crosse), la tularémie, le paludisme et la dengue (Giguère and Gosselin 2006). Parmi d'autres facteurs, les changements écologiques (ex. : le climat et l'organisation du paysage) et les changements d'ordre anthropologique (ex. : voyage et développement résidentiel à proximité des milieux naturels) peuvent avoir une incidence sur le niveau de risque associé aux maladies vectorielles zoonotiques. Les changements écologiques sont particulièrement susceptibles de modifier l'aire de répartition et les dynamiques de population des vecteurs et des agents pathogènes favorisant l'introduction, l'établissement et la propagation de ces maladies (Patz 2001, Randolph 2004b, Tran et al. 2005).

Le contrôle des maladies vectorielles constitue un défi en pleine expansion ayant des conséquences sur la santé humaine, sur le développement socio-économique (ex. : paludisme ou dengue) et sur la production animale (ex. : la trypanosome animale, la fièvre de la vallée du Rift ou la fièvre catarrhale du mouton) (OMS 2004). Malgré la complexité du mode de transmission indirect et les nombreux acteurs impliqués, comprendre les mécanismes de transmission reste indispensable. En effet, plusieurs vecteurs, hôtes de vecteurs et hôtes réservoirs peuvent être impliqués dans le cycle de transmission, assurant ainsi le maintien de l'agent pathogène dans la nature (Rodhain 1985).

L'émergence de la maladie de Lyme

Vers la fin du XX^e siècle, la maladie de Lyme a été reconnue comme une maladie vectorielle émergente importante (Steere et al. 2004). L'établissement du cycle de transmission de la maladie de Lyme dans de nouvelles régions du Nord-Est et Midwest américains (Canada et États-Unis) est en partie expliqué par l'expansion de son vecteur, *Ixodes scapularis* (Steere et al. 2004, Hamer et al. 2010, Leighton et al. 2012). Appelée la tique du chevreuil ou tique à pattes noires de l'Est, *I. scapularis* est le vecteur de *Borrelia burgdorferi*, l'agent de la maladie de Lyme (*Borrelia burgdorferi sensu stricto*; *B. burgdorferi* étant le diminutif utilisé dans ce manuscrit). Cette tique peut servir de vecteur pour d'autres agents pathogènes comme ceux de l'anaplasmose humaine (*Anaplasma phagocytophilum*), de la babésiose (*Babesia microti*) et de l'encéphalite de Powassan (virus de Powassan) (Thompson et al. 2001). L'expansion d'*I. scapularis* contribue donc à augmenter le risque de transmission de plusieurs agents de maladies vectorielles. Plusieurs études ont rapporté la présence de nouvelles régions devenues endémiques pour la tique *I. scapularis* et l'agent de la maladie de Lyme aux États-Unis et au Canada (Bollegraaf 1988, Lindsay et al. 1991, Banerjee et al. 2000, Scott et al. 2004, Morshed et al. 2006, Hamer et al. 2007, Ogden et al. 2008d, Scott et al. 2008, Ogden et al. 2009, Hamer et al. 2010). Ces régions nouvellement endémiques où on y trouve des populations viables de la tique *I. scapularis* représentent des zones privilégiées pour étudier le cycle de transmission des maladies vectorielles dans leur contexte environnemental.

L'éco-épidémiologie de la maladie de Lyme

L'éco-épidémiologie vise l'étude des processus écologiques¹ favorisant l'apparition de maladies dans les populations animales ou humaines à l'intérieur d'un écosystème² (March and Susser 2006). L'objectif général est de cerner la dynamique d'un agent pathogène dans un contexte environnemental donné et en considérant l'ensemble des organismes en interaction participant directement ou indirectement à l'expression d'une maladie.

Évolution conceptuelle de l'éco-épidémiologie

L'écologie du paysage, une science qui étudie la variation spatiale, à différentes échelles des éléments du paysage, est une discipline qui a émergé dans les années 30 (Troll 1939). Vers la fin des années 60, cette discipline a inspiré « l'éco-épidémiologie », afin de mieux comprendre les cycles de transmission des maladies vectorielles (Pavlovsky 1966). Parallèlement, la reconnaissance des différents niveaux d'organisation et des causes multiples en épidémiologie c'est fait vers la fin des années 50 (Morris 1957).

L'évolution conceptuelle de l'éco-épidémiologie passe par les notions de complexe pathogène (Sorre 1933), de système pathogène (Picheral 1983), de paysage épidémiologique (Amat-Roze and Rémy 1983), de paysage écologique (Curtis 2004), et de la théorie des espaces partagés (Handschumacher and Hervouët 2004). Le « complexe pathogène » de Sorre comprend des facteurs physiques, biologiques et anthropiques et forge le cadre conceptuel de la géographie médicale moderne. Picheral élargit la notion de complexe à celle de « système pathogène » afin de prendre en compte

¹ Processus écologiques : désigne les processus ou les mécanismes qui évoluent dans un écosystème et qui lient les organismes vivants à leur environnement.

² Écosystème : système formé par un environnement (biotope) et par l'ensemble des espèces qui y vivent (biocénose).

les variations spatiales, temporelles et sociales de pathologies liées à l'environnement. Le « paysage épidémiologique » mise sur les discontinuités de l'environnement, ruptures ou transitions expliquant des disparités dans l'expression de maladies. La théorie des espaces partagés de Hervouët intègre la notion d'aires fonctionnelles comme des espaces favorables à la survenue d'une maladie (Handschumacher and Hervouët 2004). Le concept de paysage écologique de Curtis propose l'étude des processus sociaux combinés avec les caractéristiques de l'environnement physique. L'étude de la survenue d'une maladie n'est plus limitée à celle de son vecteur ou des hôtes impliqués, mais à l'ensemble des espaces présentant une convergence de facteurs épidémiogènes (Handschumacher and Hervouët 2004).

L'éco-épidémiologie de la maladie de Lyme, telle que présentée dans cette thèse, s'intéresse aux processus écologiques qui lient ensemble divers facteurs environnementaux (biotiques et abiotiques) présents dans un écosystème. Liés aux composantes biologiques, les facteurs biotiques représentent les différentes interactions entre la biocénose, l'ensemble des être vivants du milieu, et le biotope. Il s'agit des ressources alimentaires, des relations trophiques de prédation, de coopération, de compétition, de parasitisme, etc. Les facteurs abiotiques, quant à eux, représentent l'ensemble des facteurs physico-chimiques d'un écosystème, le biotope, qui influencent une biocénose donnée : les facteurs édaphiques (du sol), les facteurs climatiques, les facteurs topographiques, etc. Dans le cadre de ce projet, les facteurs biotiques et abiotiques considérés sont des variables dérivées des données des hôtes, du climat, de l'habitat et des caractéristiques du sol pour la région à l'étude. Un schéma conceptuel illustrant l'éco-épidémiologie de la maladie de Lyme est proposé (Figure 1).

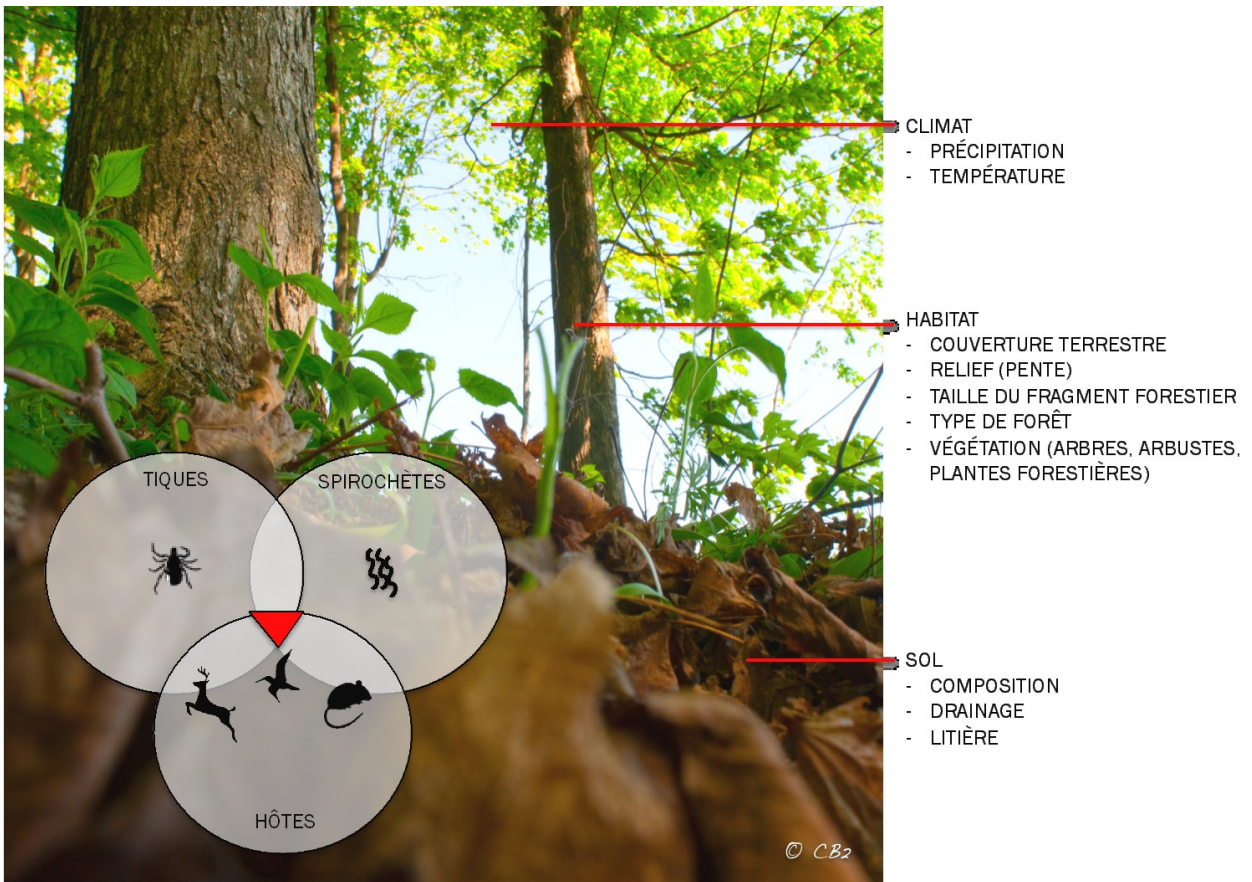


Figure 1. Éco-épidémiologie de la maladie de Lyme : les relations spirochètes-tiques-hôtes et les facteurs environnementaux impliqués dans le cycle de transmission. Le triangle rouge illustre le foyer (nid) de transmission à la jonction des interactions spirochètes-tiques-hôtes dans un environnement propice, inspiré de Reisen 2010

L'étude de la triade spirochète-tique-hôte dans un écosystème permet de comprendre et potentiellement prédire le risque environnemental et le risque épidémiologique. La transmission de *B. burgdorferi* à l'Homme est le résultat d'une chaîne complexe de processus écologiques. L'ensemble de ces processus écologiques qui lie divers facteurs environnementaux contextuels ne se résume pas à de simples relations causales, car des relations non linéaires (ex. : boucle de rétro-action) et des notions de seuil ou de ratio doivent être prises en compte, et ce dans un écosystème dynamique (système ouvert).

Objectifs

L'objectif principal de ce projet est d'étudier les relations spirochètes-tiques-hôtes en tenant compte des facteurs environnementaux impliqués dans le cycle de transmission de la maladie de Lyme. Ce projet vise à étudier cette problématique dans un contexte d'émergence à partir des données du vecteur et de l'agent pathogène recueillies dans le Sud-Ouest³ du Québec de 2007 à 2008. Les objectifs spécifiques du projet sont les suivants :

- décrire les connaissances éco-épidémiologiques de la maladie de Lyme tirées d'une revue de littérature extensive;
- décrire l'activité saisonnière des tiques et les associations entre le vecteur et les hôtes de l'ordre des rongeurs (c.-à-d. décrire le rôle des micromammifères à titre d'hôtes pour le vecteur et de réservoirs pour les agents pathogènes);

³ Dans cette thèse, la délimitation du Sud-Ouest du Québec englobe les régions administratives suivantes : Montérégie, Estrie et Montréal.

- décrire les associations entre le vecteur et les hôtes de la famille des cervidés en tenant compte des facteurs environnementaux associés à leur niveau d'infestation et évaluer l'utilisation des cerfs à titre de sentinelles pour le vecteur *I. scapularis* et la bactérie *B. burgdorferi* ou d'autres agents pathogènes zoonotiques;

- analyser l'impact de la diversité des micromammifères et de la végétation sur l'abondance du vecteur *I. scapularis* et l'occurrence de la bactérie *B. burgdorferi* et ce, en tenant compte des facteurs environnementaux associés à leur établissement.

Enfin, ce projet vise à comprendre les processus écologiques importants dans le cycle de transmission de la maladie de Lyme et de décrire leurs implications en santé publique vétérinaire.

Dans le chapitre 1, l'identification de la saisonnalité spécifique à chaque stade de la tique *I. scapularis* permet d'établir les mois propices pour effectuer les futures collectes de tiques. La saisonnalité des tiques immatures en quête (synchronicité des repas) peut également être un indicateur de la nature ou souche de *B. burgdorferi* retrouvée. De plus, l'association des tiques immatures à différentes espèces ou différentes classes d'hôtes (c.-à-d. âge, sexe, statut reproductif) permet d'investiguer la variation inter-sites de la prévalence d'infection de *B. burgdorferi*.

Dans le chapitre 2, les cerfs et leurs tiques (carcasses des cerfs abattus en période de chasse) sont investigués afin d'établir s'ils sont des hôtes sentinelles adéquats des populations de la tique *I. scapularis* ou d'agents pathogènes et ce, en tenant compte des facteurs environnementaux. Le but est de déterminer si la localisation des cerfs infestés reflète les régions endémiques pour les tiques ou les maladies vectorielles.

Dans le chapitre 3, l'impact de la diversité des hôtes et de l'habitat sur l'abondance de la tique *I. scapularis* et la prévalence de *B. burgdorferi* en tenant compte de d'autres facteurs environnementaux est exploré. Ces analyses permettent de déterminer les facteurs critiques à l'établissement du complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi* et d'explorer la contribution relative de diverses espèces d'hôtes.

Recension des écrits

Cette revue de littérature se concentre sur l'éco-épidémiologie de la maladie de Lyme. L'objectif de cette section est de résumer l'information sur les facteurs environnementaux favorisant les relations spirochètes-tiques-hôtes en se concentrant à des régions comparables au Sud-Ouest du Québec (c.-à-d. Sud-Est du Canada, Nord-Est et Midwest des États-Unis). La maladie de Lyme chez l'Homme et son épidémiologie sont d'abord décrites. Ensuite, une description détaillée des caractéristiques des populations impliquées dans le cycle de transmission de la maladie de Lyme (c.-à-d. le spirochète, la tique vectrice et les hôtes) et des facteurs environnementaux qui favorisent l'établissement du cycle est proposée.

La maladie de Lyme chez l'Homme

Symptomatologie

La maladie de Lyme est une infection multi systémique avec des atteintes dermatologiques, articulaires, neurologiques et cardiaques. Les manifestations cliniques de la maladie de Lyme sont diffuses et variables entre les individus. Il est intéressant de noter que la présence du spirochète dans l'organisme n'est pas toujours associée à des symptômes et que des cas d'infections asymptomatiques à *B. burgdorferi sensu lato* ont été décrites aux États-Unis et en Europe (Zhioua et al. 1997, Steere et al. 2003). Les manifestations cliniques varient également selon l'espèce bactérienne responsable de l'infection. Par exemple, l'infection par l'espèce *B. burgdorferi sensu stricto* (l'appellation *B. burgdorferi* étant utilisée par la suite) est typiquement associée à des problèmes arthritiques, *B. garini* est associée à des manifestations neurologiques, alors que *B. afzeli* est associée à des problèmes cutanés (Postic et al. 1994). Néanmoins, les symptômes se chevauchent souvent entre les espèces bactériennes (Ornstein et al. 2002). L'infection par *B. burgdorferi* se présente généralement en trois phases : la phase précoce localisée, la phase précoce disséminée et la phase tardive (Steere et al. 2001).

L'infection précoce localisée se manifeste par l'apparition d'une lésion cutanée, l'érythème migrant, observable chez 70-80% des personnes infectées. La lésion apparaît entre 3 et 30 jours suivant la piqûre, mesure entre 5 et 60 cm et peut persister jusqu'à 8 semaines (Ogden et al. 2008a).

Lorsque l'infection est non-traitée, une phase précoce disséminée survient quelques semaines après la piqûre indiquant la dissémination hématogène du spirochète. Des symptômes généraux y sont associés tels que les maux de tête, la fièvre, la fatigue, les myalgies, les arthralgies. La

neuroborréliose survient dans 15% des cas non-traités, l'arthrite dans 60% des cas non-traités, tandis que les cas avec atteinte cardiaque sont rares (Steere et al. 2001). Chez les enfants, *B. burgdorferi sensu lato* est la cause bactérienne la plus fréquente d'encéphalite et de paralysie faciale (American Academy of Pediatrics 2000).

En Amérique du Nord, l'infection tardive se manifeste dans les mois ou années suivant la piqûre et se définit par la chronicité des atteintes articulaires (épisodes prolongés d'arthrite). L'existence d'une forme chronique de la maladie de Lyme suscite de la controverse et est considérée avec scepticisme par la communauté médicale (Feder et al. 2007) quoiqu'un syndrome post-traitement soit maintenant reconnu par les *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC).

Diagnostic, traitement et prévention

Le diagnostic est d'abord basé sur les signes cliniques et/ou confirmé par des tests sérologiques et des tests de détection de la bactérie (PCR ou culture bactérienne). La présence d'un érythème migrant typique est suffisante pour faire le diagnostic de la maladie en l'absence de test laboratoire (Stanek et al. 2012). Mondialement, les tests de détection d'anticorps utilisés dans les laboratoires de la santé publique sont faits en deux volets : un test de dépistage ELISA suivi d'un Western Blot. La sensibilité du premier test est de 48% dans la phase précoce et 100% dans la phase disséminée et la spécificité de 99,5% (Branda et al. 2011). La présence d'un faible pourcentage de faux négatifs ou de faux positifs peut poser un problème (Ogden et al. 2008a). Les faux négatifs peuvent être obtenus lorsque le test est fait en stade précoce ou lorsque des personnes infectées ont été traitées par des antibiotiques (absence de réponse immunitaire subséquente) (Steere et al. 2001). Les faux positifs peuvent être obtenus lorsqu'une personne a déjà séjourné ou vécu dans une région endémique, ou a été infectée par d'autres agents infectieux (Artsob 2010). Il faut aussi souligner que près de 10% des

patients atteints de neuroborréliose auraient des résultats négatifs (Aguero-Rosenfeld et al. 2005). Ainsi, le stade de l'infection et les effets possibles d'un traitement sur les résultats des tests sérologiques doivent être pris en compte lors de l'interprétation des épreuves de diagnostic.

Le traitement avec des antibiotiques est efficace dans les phases précoces de la maladie dans environ 90% des cas (Wormser et al. 2006). Toutefois, un syndrome post-traitement de la maladie de Lyme est reconnu par les autorités de santé publique : entre 10 à 20 % des patients traités ressentent toujours de la fatigue, des douleurs articulaires ou musculaires persistantes. La cause exacte n'est pas encore identifiée. La plupart des experts médicaux sont d'avis que les symptômes persistants découlent de dommages résiduels de l'infection aux tissus et au système immunitaire. Les études n'ont pas démontré que les patients recevant des traitements antibiotiques prolongés allaient mieux à long terme que ceux qui avaient reçu un placebo. De plus, le traitement à base d'antibiotique à long terme a été associé à des effets secondaires, tels que la sensibilité, l'enflure des extrémités, la réduction du nombre de globules blancs, sans omettre de mentionner le développement de résistance aux antibiotiques employés. Il n'y a pas de vaccin actuellement disponible contre la maladie de Lyme. La prévention de la piqûre ou le retrait rapide de la tique *I. scapularis* demeure les mesures les plus efficaces pour éviter l'infection par *B. burgdorferi* (American Academy of Pediatrics 2000).

Fardeau de la maladie de Lyme en Amérique du Nord

Bien que la mortalité directement associée à la maladie de Lyme soit faible (Pinto 2002), la maladie demeure un problème de santé publique important en raison de son émergence, son expansion géographique, des manifestations cliniques diffuses et des difficultés liées au diagnostic (Ogden et al. 2008a). Les formes avancées (disséminée précoce et tardive) de la maladie de Lyme représentent un fardeau sanitaire reconnu par les autorités de santé publique au Canada. Un diagnostic et un

traitement rapides et efficaces des patients étant souhaitables afin de limiter des complications associées à l'infection.

L'incidence de la maladie de Lyme semble grandement sous-estimée, soit d'un facteur de 10 selon trois études récentes du CDC (études non-publiées). Ainsi, il y aurait environ 300 000 cas de maladie de Lyme annuellement aux États-Unis. Si ce nouvel estimé de l'incidence s'avère réel, la maladie de Lyme figurerait alors au troisième rang des maladies infectieuses à déclaration obligatoire aux États-Unis, derrière la chlamydia et la gonorrhée. Enfin, il faut mentionner que les groupes d'âges les plus touchés par la maladie de Lyme sont les groupes de 5-9 ans et de 55-59 ans (Bacon et al. 2008).

Au Canada, la maladie de Lyme pourrait poser une nouvelle problématique de santé publique dans les espaces fortement urbanisés, et ce, en raison d'une forte concentration humaine et de la capacité polarisante des grands massifs forestiers périurbains telle que suggéré par Méha (2012). Cette répartition spatiale aux abords des grandes villes et banlieues pourrait aboutir à une augmentation rapide des cas constatés par les praticiens de la santé.

L'épidémiologie de la maladie de Lyme

D'abord en Europe, puis en Asie, Afrique du Nord et enfin en Amérique du Nord, la maladie de Lyme (ou borréliose de Lyme) s'est répartie dans les zones tempérées de l'hémisphère Nord. Depuis son identification aux États-Unis dans les années 70, de nombreuses études ont amélioré les connaissances quant aux mécanismes de dispersion et aux mécanismes écologiques du cycle de transmission de la maladie. Malgré les recherches extensives sur la maladie de Lyme, l'incidence annuelle des cas humains ne cesse d'augmenter, que ce soit en Amérique du Nord ou en Europe (Bacon et al. 2008). À ce jour, c'est la maladie transmise par les tiques la plus fréquemment rapportée en Amérique du Nord et en Europe (Wormser et al. 2006).

Incidence aux États-Unis

Aux États-Unis, depuis les débuts de la surveillance de la maladie de Lyme par les CDC, le nombre de nouveaux cas humains signalés a augmenté de façon constante: de 9 908 cas en 1992 à 33 097 cas en 2011 pour un total d'environ 410 000 cas entre 1992 et 2011 (MMWR 2013). En 2011, près de 96% des cas humains signalés provenaient des états du Nord-Est des États-Unis: Connecticut, Maine, Massachussets, New Hampshire, Rhode Island, Vermont, New Jersey, New York, Pennsylvanie, Illinois, Indiana, Michigan, Wisconsin (MMWR 2013).

Incidence au Canada

Au Canada, les premiers cas de la maladie de Lyme furent identifiés dans les années 80 (Watson and Anderson 1976, Bollegraaf 1988). Entre les années 1994 à 2011, environ 1 300 cas ont été répertoriés : en 2011, 258 cas ont été rapportés selon les données de l'Agence de la santé publique du Canada. Au Québec, 138 cas ont été rapportés entre 2004 et 2012 et 31 de ces cas sont indigènes. Le nombre annuel de cas déclarés est passé de 2 à 14 entre 2004 et 2008, est demeuré stable en 2009 et 2010, puis a atteint 32 et 42 en 2011 et 2012 respectivement (MSSS 2013).

Les études réalisées au Canada dans les deux dernières décennies ont permis d'identifier de nouvelles zones endémiques pour la maladie de Lyme dans les provinces de la Nouvelle-Écosse, du Nouveau-Brunswick, du Québec, de l'Ontario, du Manitoba et de la Colombie-Britannique (Artsob 2010).

La tique *I. scapularis* a été identifiée au Canada pour la première fois en 1904 en Ontario (Nuttall and Warburton 1911). Cette tique vectrice ou l'agent *B. burgdorferi* se retrouvent aujourd'hui dans toutes les provinces canadiennes (Costero 1990, Artsob et al. 1992, Banerjee 1995, Lindsay et al. 1998,

Lindsay et al. 1999b, Banerjee et al. 2000, Scott et al. 2001, Scott et al. 2004, Morshed et al. 2006, Ogden et al. 2006a, Ogden et al. 2009). Néanmoins, peu de sites où la tique *I. scapularis* est établie de façon endémique sont identifiés. Le Consensus canadien sur la maladie de Lyme (Health Canada 1991) a défini un site endémique comme étant tout endroit où les trois stades de développement de la tique sont présents pendant deux années consécutives. À ce jour, 13 régions sont reconnues endémiques pour *I. scapularis*. Ces dernières se situent en Nouvelle-Écosse, au Nouveau-Brunswick, au Québec, en Ontario, et au Manitoba.

Au Québec, les données du programme de surveillance passive du Laboratoire de santé publique du Québec (LSPQ) rapportent plus de 10 000 tiques *I. scapularis* (immatures ou adultes) prélevées sur les animaux domestiques ou les humains entre 1990-2011 (communication personnelle - Dre Louise Trudel). Le programme de surveillance du LSPQ repose sur l'effort des cliniques vétérinaires volontaires et des centres hospitaliers du Québec à envoyer les tiques retrouvées sur les animaux domestiques ou sur les êtres humains. Les tiques prélevées sont acheminées au LSPQ pour une première identification et les tiques *I. scapularis* sont ensuite envoyées au Laboratoire national de microbiologie de l'ASPC pour détecter la présence de l'agent pathogène. Vu le nombre élevé de tiques *I. scapularis* dans les régions de la Montérégie, de l'Estrie et de l'île de Montréal (régions du Sud-Ouest du Québec), une surveillance active de terrain s'avérerait nécessaire dans le Sud-Ouest de la province. L'identification des zones endémiques de la tique, donc potentiellement de la maladie de Lyme et de d'autres maladies vectorielles est possible suivant la mise en place des programmes de surveillance dans le but d'identifier le risque dans l'environnement (surveillance dite « active »).

Le spirochète

L'agent de la maladie de Lyme est la bactérie spirochète *Borrelia burgdorferi*. Le genre *Borrelia* appartient au phylum *Spirochaetes*, à l'ordre des *Spirochaetales* et à la famille des *Spirochaetaceae* (Tilly et al. 2008). On retrouve deux complexes dans le genre *Borrelia* (Rosa 1997): i) *B. recurrentis* associé aux fièvres récurrentes et ii) *B. burgdorferi sensu lato* associé à la maladie de Lyme. Avec leur allure spiralée, les spirochètes sont des bactéries extrêmement mobiles. Des flagelles localisés dans l'espace périplasmique contribuent au mouvement et à la morphologie de la cellule (Johnson et al. 1984). La bactérie mesure entre 10 et 30 μm de longueur pour un diamètre d'environ 0,25 μm (Johnson et al. 1984, Barbour and Hayes 1986). Ces bactéries sont très efficaces pour pénétrer entre les cellules endothéliales et envahir les tissus conjonctifs et les différents organes du corps humain (Kimsey and Spielman 1990).

L'isolement de la bactérie à partir des tiques infectées s'est faite dans les années 80 aux États-Unis et en Europe (Burgdorfer et al. 1982, Steere et al. 1983a, Schmid et al. 1984, Barbour et al. 1985). En 1975 à Old Lyme aux États-Unis (Connecticut), un foyer de cas d'arthrite inflammatoire et des lésions cutanées chez des enfants furent reliés à des morsures de tiques (Steere et al. 1977). Il fut alors reconnu que l'arthrite était une manifestation tardive d'une maladie transmise par les tiques. En 1981, le Dr. Willy Burgdorfer découvrit des bactéries spirochètes dans les intestins de la tique *Ixodes dammini* (renommée plus tard *I. scapularis* (Oliver et al. 1993, Wesson et al. 1993)) collectée dans l'état de New York. Il émit l'hypothèse que ces spirochètes étaient responsables des signes cliniques observés (Burgdorfer et al. 1982). L'étiologie de la maladie fut prouvée par la suite. En effet, une culture bactérienne à partir du sang de patients présentant des signes aigus de la maladie s'avéra positive. Des anticorps contre le spirochète furent également détectés (Benach et al. 1983, Steere et

al. 1983b). Certains signes cliniques de la maladie (ex. : érythème migratoire, méningo-radculite) avaient déjà été observés en Europe et en Amérique au début du 20^e siècle (Azfelius 1921, Garin and Bujadoux 1922, Scrimment 1970, Halperin 2011). La maladie de Lyme existait donc bien avant la découverte de l'agent causal (Persing et al. 1990).

B. burgdorferi sensu lato

Le complexe *B. burgdorferi s.l.* regroupe dix-huit génoespèces différentes : *B. afzelii*, *B. americana*, *B. andersoni*, *B. bavariensis*, *B. bissetti*, *B. burgdorferi sensu stricto (s.s.)*, *B. carolinensis*, *B. garinii*, *B. japonica*, *B. kurtenbachii*, *B. lusitaniae*, *B. sinica*, *B. spielmanii*, *B. tanuki*, *B. turdii*, *B. valaisiana*, *B. yangtze* et le groupe génoespèces 2 (Baranton et al. 1992, Richter et al. 2006, Rudenko et al. 2011). On retrouve ces espèces en Europe, en Asie, en Amérique du Nord et en Afrique du Nord. Quatre espèces sont reconnues comme pathogènes chez l'Homme: *B. burgdorferi s.s.*, *B. garinii*, *B. afzelii* et *B. spielmanii* (Richter et al. 2006). Il est important de préciser que chaque génoespèce pathogène peut causer différentes manifestations cliniques de la maladie de Lyme (Balmelli and Piffaretti 1995).

Au Nord-Est du continent américain, *B. burgdorferi s.s.* est l'espèce pathogène responsable du nombre grandissant des cas humains de la maladie de Lyme (Kurtenbach et al. 2006) (Tableau I). Cette espèce de spirochète est également reconnue pour son expansion géographique aux États-Unis et au Canada (Hamer et al. 2010, Ogden et al. 2010). D'après des études récentes, l'espèce *B. burgdorferi s.s.* d'origine européenne a d'abord été introduite au Nord-Est des États-Unis, puis au Midwest des États-Unis et Sud-Est du Canada (Gatewood et al. 2009). Au Canada, la diversité génétique de *B. burgdorferi s.s.* est similaire à celle des États-Unis, par contre des études récentes suggèrent une diversité moins grande de *B. burgdorferi* comparativement aux États-Unis (Ogden et

al. 2010, Ogden et al. 2011). Peu d'études sont faites pour décrire les effets combinés de la saisonnalité des tiques locales et des événements fondateurs stochastiques sur la diversité des *B. burgdorferi*.

Génome de B. burgdorferi

Le génome de la souche *B. burgdorferi* s.s. B31 a entièrement été séquencé (Johnson et al. 1984). Le génome, d'environ 1,5 millions de paires de bases, comprend un chromosome linéaire d'une taille de 910 725 bp et 21 plasmides circulaires ou linéaires : cp9, cp26, cp32-7x, lp5, lp17, lp21, lp25, lp28-4x, lp36, lp38, lp54 et lp56. Il contient près de 1800 gènes (Fraser et al. 1997, Casjens 2000). Les plasmides sont des molécules d'ADN surnuméraire distinctes de l'ADN chromosomique. Chez *B. burgdorferi*, certains plasmides sont indispensables à la virulence des souches. Les plasmides circulaires cp26 et cp32 et les plasmides linéaires lp25, lp28-1 et lp54 portent des gènes responsables de la pathogénicité et de la persistance des spirochètes chez les hôtes réservoirs ou les tiques (Stewart et al. 2005). Par ailleurs, au sein de l'espèce *B. burgdorferi* s.s. ce type de diversité génétique a été observé et associé à différents aspects de la pathogénicité (Wang et al. 1999).

Interactions spirochètes-tiques-hôtes

Des études récentes en Europe sur le cycle de transmission de la maladie de Lyme, suggèrent que la capacité des différentes espèces d'hôtes vertébrés à maintenir ou transmettre *Borrelia* spp. dépend largement de la tolérance de leur système immunitaire envers cette bactérie (Kurtenbach et al. 2002, Gern 2008). La variabilité dans la compétence des différentes espèces réservoirs est expliquée par l'efficacité de leur réponse immunitaire innée (activation du complément) autant qu'acquise (production d'anticorps). *B. burgdorferi* a développé divers mécanismes pour s'adapter à ses hôtes et

à sa tique vectrice en stimulant l'expression de gènes qui facilitent sa survie.

Une grande partie du génome de *B. burgdorferi* code pour des lipoprotéines de surface, telles que les lipoprotéines de surface Osp A et Osp C (Fraser et al. 1997). D'après les recherches sur les fonctions des lipoprotéines de surface, la variabilité des antigènes de surface constitue une arme pour permettre aux spirochètes d'échapper au système immunitaire de l'hôte et contribue à l'établissement et à la persistance de l'infection chez l'hôte (Wilske et al. 1995, Ornstein et al. 2002, Grimm et al. 2004b). Par exemple, certains gènes de *B. burgdorferi* codent pour des lipoprotéines de surface (ex. : les lipoprotéines Osp E/F et CRASP) qui inhibent l'activation du complément et donc échappent à l'activité bactéricide (Hellwage et al. 2001, Kraiczy et al. 2001). Suivant l'infection d'un hôte, le spirochète exprime également des gènes qui codent pour des protéines, les protéines A et B ou DbpA et DbpB, qui se lient à des composantes extracellulaires de l'hôte (ex. : décorine) et améliorent ses chances de survie (Brown et al. 2001). Un autre exemple est une région spécifique localisée sur le plasmide lp28-1 (région *VlsE*) qui code pour des lipoprotéines reliées à la virulence et qui est responsable de la variation antigénique permettant la persistance chez l'hôte (Grimm et al. 2004a).

Chez la tique, *B. burgdorferi* stimule l'expression de la lipoprotéine de surface A (Osp A) afin de coloniser les intestins de la tique. De façon possiblement synergique (Neelakanta et al. 2007), des récepteurs de la tique à l'Osp A (TROSPA) sont produits abondamment et se lient aux Osp A de la bactérie. Cette production accrue de TROSPA peut être avantageuse pour la persistance de la bactérie à l'intérieur de la tique (Hovius et al. 2007). À l'inverse, lorsque qu'une tique s'engorge de sang, *B. burgdorferi* diminue l'expression des gènes qui codent pour les Osp A mais augmente ceux qui codent pour les Osp C. Les Osp C se lient à une composante des glandes salivaires de la tique

(Grimm et al. 2004b). Le spirochète stimule l'expression de gènes retrouvés dans les glandes salivaires de la tique, *salp15*, qui peuvent inhiber l'activation des lymphocytes T en se liant aux récepteurs de surface CD₄ (Anguita et al. 2002, Garg et al. 2006). La protéine *Salp15* peut aussi se lier aux Osp C et protéger ainsi le spirochète de la réponse acquise de l'hôte (Ramamoorthi et al. 2005). Ainsi, des hauts niveaux de *Salp15* peuvent être bénéfiques au spirochète et par ricochet à la tique, en évitant un rejet et en permettant la prise d'un repas de sang complet de la tique. Voilà donc quelques exemples des mécanismes complexes développés et requis pour assurer le succès des relations spirochètes-tiques-hôtes.

La tique vectrice

Les tiques sont considérées comme l'un des principaux vecteurs de maladies infectieuses pour l'Homme dans le monde entier (Parola and Didier 2001). À ce jour, plusieurs espèces de tiques sont reconnues comme étant des vecteurs compétents de la maladie de Lyme. Il est donc important d'identifier les caractéristiques responsables de leur succès à titre de vecteur.

Les tiques appartiennent à la classe *Arachnidae* et à l'ordre des *Acari*, plus précisément au sous-ordre *Ixodida*. Toutes les espèces de tiques se nourrissent du sang des mammifères, des oiseaux ou des reptiles. Toutefois, environ 30 espèces du sous-ordre *Ixodida* sont reconnues comme étant vectrice d'organismes pathogènes associés à des maladies transmissibles à l'Homme (Anderson and Magnarelli 2008). Parmi ce sous-ordre, les 908 espèces décrites sont subdivisées en 4 familles : les *Ixodidae* (tiques dures), les *Argasidae* (tiques molles), les *Nuttalliellidae* et les *Laelaptidae* (Anderson 2002, Anderson and Magnarelli 2008). Les tiques dures, famille des *Ixodidae*, présentent un bouclier

dorsal slérotisé⁴ recouvrant, chez le mâle, toute la surface dorsale et chez les larves, nymphes et femelles la partie antérieure du corps seulement. La famille *Ixodidae*, très diversifiée, comprend 720 espèces (Anderson 2002). La famille des *Argasidae*, ou tiques molles, présentent un exosquelette flexible et rassemble quelques 186 espèces. Les familles *Nuttalliellidae* et *Laelaptidae* sont de moindre importance, n'étant représentées que par une espèce chacune.

Famille Ixodidae

La famille *Ixodidae* comprend 13 genres regroupant plus de 700 espèces répandues dans le monde. En Amérique du Nord, les genres *Ixodes*, *Dermacentor* et *Amblyomma* sont les plus importantes du point de vue de la santé publique, plus particulièrement les espèces *I. scapularis* et *I. pacificus* (Gray 2002) (Tableau II). Le cycle de vie des tiques dures comprend quatre stades de développement : l'œuf, la larve, la nymphe et l'adulte. Étant donné leur mode d'alimentation (parasites hématophages obligatoires), ces arthropodes sont vecteurs de plusieurs microorganismes pathogènes. Ils peuvent parasiter toutes les classes de vertébrés dans la plupart des régions du monde. Leur potentiel vectoriel est donc très grand (Gray 2002). Les tiques dures ont tendance à se disperser dans l'environnement à la recherche d'hôtes. En effet, les tiques dures sont typiquement nidifuges, tandis que les tiques molles sont nidicoles (Anderson 2002).

Interactions de la tique I. scapularis avec son environnement

Les mécanismes d'adaptation impliqués dans la recherche d'hôtes (i) et la prise de repas (ii), bien que non spécifiques à *I. scapularis*, ont été particulièrement étudiés pour cette espèce.

⁴ Bouclier dur (non-flexible) sur la face dorsale de la tique.

i) La quête

Les tiques, de part leur ratio surface/volume très élevé, sont sensibles à leur environnement, mais elles ont développé des mécanismes d'adaptation. Diverses recherches ont démontré que les tiques peuvent : limiter leurs pertes en eau, absorber l'humidité de l'air par leur pharynx, restreindre leurs mouvements à des moments particuliers de la journée, utiliser leurs cellules thermosensibles pour évaluer les conditions du microclimat propice à leur survie (ex. : diapause) et utiliser les récepteurs sensoriels et chimiques présents sur leurs pattes et leurs pièces buccales pour détecter un hôte (Randolph 2004a, Bowman et al. 2008, Suss and Gerstengarbe 2008). L'organe de Haller, situé sur la face ventrale des pattes, est un exemple d'organe sensoriel très complexe qui permet de détecter les ombres, les vibrations, la chaleur corporelle et les odeurs des hôtes et de s'adapter à la température et l'humidité ambiante (Waladde 1982, Suss and Gerstengarbe 2008). La tique en quête d'un hôte grimpe sur la végétation basse (ex. : les plantes forestières) puis tend ses pattes antérieures pour mieux « sentir » et accrocher un hôte. Les mécanismes qui font qu'une tique puisse trouver et sélectionner un hôte sont peu connus mais semblent faire intervenir leur capacité olfactive et leur capacité à détecter du CO₂ (organe de Haller et palpes, respectivement).

Le cycle de développement de la tique *I. scapularis* dure entre 2 et 4 ans. Leur survie et leur activité étant influencées par la dessiccation, le froid, l'humidité et leur succès à accrocher un hôte. Les pourcentages de mortalité sont élevés : 95% pour la phase œuf à larve, 90% larve à nymphe et 80% nymphe à adulte (Randolph 2008). Les stades immatures d'*I. scapularis* ne survivent pratiquement pas à une humidité relative plus basse que 75 % (Stafford 1994). La taille minuscule des larves (inertie thermique faible) et leur cuticule perméable à l'eau font en sorte qu'elles sont plus sensibles à la dessiccation que les nymphes (Stafford 1994). Cependant, une humidité excessive favorise la

croissance de champignons réduisant la survie des œufs (Guerra et al. 2002). D'autres causes peuvent favoriser la mortalité des différents stades de la tique, soit la prédation, le parasitisme ou les infections microbiennes (Randolph 2008).

Chaque stade de la tique *I. scapularis* a typiquement une saisonnalité qui le caractérise en terme de recherche d'hôte (Watson and Anderson 1976, Spielman et al. 1985, Wilson and Spielman 1985, Schulze et al. 1986a, Daniels et al. 1989, Lindsay et al. 1999b, Kurtenbach et al. 2006) (Figure 2).

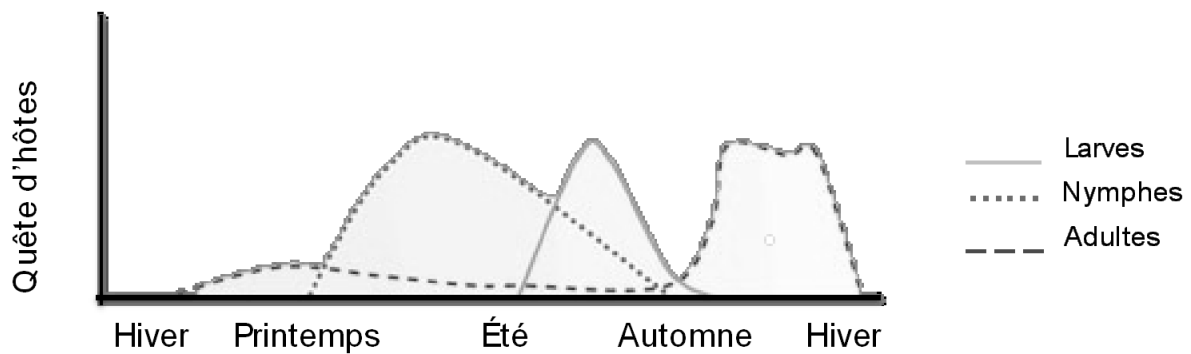


Figure 2. Saisonnalité des trois stades de la tique *I. scapularis* dans la quête d'hôtes (inspiré de Kurtenbach et al. 2006). L'axe des Y représente l'activité relative des tiques en quête d'hôtes sur une échelle arbitraire.

Chaque stade peut toutefois être décalé dans le temps quant à leur période d'activité selon le succès à trouver un hôte. Typiquement, les tiques adultes se nourrissent à l'automne (octobre et novembre) et au printemps (avril à juillet) (Lindsay et al. 1995). Le mâle adulte se nourrit partiellement (Krinsky 1979) ou pas du tout et demeure sur l'hôte afin de féconder la femelle. La fécondation peut aussi se réaliser dans les herbes avant de trouver un hôte. La femelle adulte engorgée et fécondée se détache de son hôte après 7-10 jours, se réfugie dans la litière du sol pour pondre plusieurs milliers d'œufs (Kiszewsky et al. 2001) le printemps suivant (avril à juillet). De ces œufs se développent des larves

hexapodes qui chercheront un hôte vers la fin de l'été suivant (fin juillet à septembre). Deux à cinq jours suivant leur repas, les larves se détachent de leur hôte et se transforment en nymphes octopodes actives le printemps suivant. Les nymphes restent attachées sur leur hôte trois à sept jours pour compléter leur repas. Elles deviennent des adultes actives, mâles ou femelles, à l'automne suivant.

La dispersion des tiques dépend du transport par un hôte durant la prise du repas (Daniels and Fish 1990). Les larves n'ayant pas complété un repas sont donc très peu dispersées : rayon de moins d'un mètre autour du site de la ponte (Stafford 1992).

ii) Le repas

Les tiques *Ixodidae* ont besoin de trois repas de sang pour se métamorphoser ou pour assurer la fécondation et la ponte (un repas par stade). Tout d'abord, la tique perce l'épiderme avec ses chélicères et son hypostome (pièces buccales) tandis que ses enzymes salivaires lysent les cellules de l'hôte. Ensuite, elle sécrète un ciment ou manchon hyalin, ce qui consolide son ancrage. Pour faciliter ce dernier, les pièces buccales sont couvertes de crochets (Nuttall and Labuda 2003). Enfin, une fois bien fixée, la tique aspire le sang de son hôte et réinjecte sa salive, créant et agrandissant une cavité sous la peau afin d'atteindre les microcapillaires sanguins (Pérez-Eid 2007). Dans son tractus digestif, la tique concentre trois à cinq fois le sang ingéré. L'eau excédentaire est réinjectée dans l'hôte grâce aux glandes salivaires spécialisées de la tique (Gray 2002, Nuttall and Labuda 2003). Ce processus est décisif dans la transmission des agents pathogènes à l'hôte via les glandes salivaires. La salive de la tique renferme de nombreuses substances limitant la détection par l'hôte et facilitant la prise du repas : substances anti-histaminiques, substances anti-complément, inhibiteurs de l'accumulation des macrophages, vasodilatateurs, anticoagulants, substances fibrinolytiques,

collagénases, inhibiteurs de la prolifération des cellules endothéliales et de l'angiogenèse (Brossard and Wikel 2008).

I. scapularis* comme vecteur de *B. burgdorferi

La persistance de l'infection à *B. burgdorferi* dans les populations de la tique *I. scapularis* s'explique de plusieurs façons. Les larves d'*I. scapularis* ne sont pas infectées dès leur éclosion. En effet, la transmission verticale de *B. burgdorferi* aux œufs serait insignifiante (Piesman et al. 1986, Magnarelli et al. 1987, Lindsay et al. 1991).

Cependant, plusieurs facteurs expliquent la persistance de l'infection à *B. burgdorferi* dans les populations d'*I. scapularis*. La transmission transstadiale, ou persistance de l'infection entre les mues, est très efficace pour la tique *I. scapularis* et est essentielle à la compétence vectorielle (voir section suivante). Dans les localités où *I. scapularis* est abondante, la prévalence d'infection pour *B. burgdorferi* est élevée chez les nymphes et les adultes (20 à 50%) indiquant la persistance de l'infection transstadiale (Magnarelli et al. 1986, Schulze et al. 1986b, Godsey et al. 1987, Telford et al. 1988, Ginsberg and Ewing 1989, Lindsay et al. 1991). Les tiques peuvent également se transmettre *B. burgdorferi* horizontalement quand un hôte infecté est parasité par plusieurs tiques qui s'alimentent simultanément, comme par exemple des larves et des nymphes sur un même hôte au printemps. Ceci favorise la transmission de l'infection entre les nymphes (typiquement actives) et les larves d'une autre génération (les larves à jeun qui ont hiverné). Les conditions climatiques locales peuvent favoriser l'activité synchrone des larves et nymphes, par exemple si la température chute à l'automne, réduisant l'activité larvaire (Gatewood et al. 2009). Ainsi le nombre de tiques susceptibles de transmettre l'infection aux hôtes lors des repas subséquents augmente. De telles conditions peuvent être plus favorables à la transmission des souches de *B. burgdorferi* qui provoquent une

infection de courte durée chez leurs hôtes (Kurtenbach et al. 2006, Ogden et al. 2007, Hanincova et al. 2008, Gatewood et al. 2009). Dans une étude de Lindsay (1997), on soupçonnait les nymphes *I. scapularis* infectées plutôt que les hôtes vertébrés infectés comme réservoir de la bactérie *B. burgdorferi* pendant l'hiver. Les tiques *I. scapularis* infectées par *B. burgdorferi* transportent la bactérie dans leur intestin moyen jusqu'au prochain repas de sang. Lors du repas, les bactéries migrent vers les glandes salivaires (Burgdorfer 1989). La transmission des spirochètes vers l'hôte débute 24 heures après l'attachement initial (Piesman et al. 1987, Nakayama et al. 1989, Piesman 1993). Cette transmission peut donc théoriquement être prévenue si on détache la tique et toutes ses pièces buccales dans les 24 heures après qu'un individu ait été piqué.

Les hôtes

La tique vectrice *I. scapularis* peut se nourrir sur une variété d'hôtes tels que les mammifères, les oiseaux et les reptiles (Magnarelli et al. 1984, Anderson 1988-1989). Les différentes espèces d'hôte offrent une multitude de niches écologiques dans lesquelles le complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi* peut exister. Pour assurer l'établissement d'un cycle de transmission de la maladie de Lyme, il faut des espèces dites « réservoirs compétents » pour le complexe *I. scapularis* - *B. burgdorferi*. Un hôte réservoir compétent doit être capable: i) d'être un hôte de la tique, ii) de recevoir la bactérie lorsque piqué par une tique infectée, iii) de développer l'infection (la bactérie pouvant proliférer dans l'hôte réservoir), iv) de transmettre la bactérie à une tique non infectée lorsque cette dernière se nourrit sur lui-même (Humair and Gern 2000, Richter et al. 2000, LoGiudice et al. 2003, Tsao 2009). Les mécanismes spécifiques soulignant les différences entre les espèces réservoirs sont encore mal compris mais sont probablement liés aux réponses immunitaires innées et acquises (LaRocca and Benach 2008, Ostfeld 2011). Chez les hôtes vertébrés, des anticorps sont détectables quelques

semaines suivant l'exposition à *B. burgdorferi* (Magnarelli et al. 1984). Cependant, ils sont inefficaces pour combattre l'infection. Chez le cerf de Virginie (*Odocoileus virginianus*) toutefois, une réponse immunitaire innée (activation du complément) permet de combattre l'infection (Telford et al. 1988).

Les mammifères sauvages

Le complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi* peut s'établir grâce à plusieurs mammifères sauvages présents en Amérique du Nord (Tableau III).

i) Micromammifères

Au Québec, parmi les 31 espèces de mammifères sauvages étant des hôtes d'*I. scapularis* ou de la bactérie *B. burgdorferi*, quinze sont des micromammifères présents sur le territoire (Tableau III). Parmi elles, six sont reconnues comme des réservoirs compétents de *B. burgdorferi* : le campagnol à dos roux (*Myodes gapperi*), la grande musaraigne (*Blarina brevicauda*), la musaraigne cendrée (*Sorex cinereus*), la musaraigne fuligineuse (*Sorex fumeus*), la souris à pattes blanches (*Peromyscus leucopus*) et le tamia rayé (*Tamias striatus*). Par exemple, l'infection persiste plus de 200 jours chez la souris *P. leucopus*, ce qui en fait le réservoir principal pour *B. burgdorferi* (Donahue et al. 1987). L'importance des micromammifères comme les souris (ex. : *Peromyscus*, *Apodemus* et *Neotoma*), les campagnols (ex. : *Myodes* [*Clethrionomys*] et *Microtus*), les tamias (ex. : *Tamias striatus*), les écureuils (*Tamiasciurus hudsonicus* et *Sciurus carolinensis*) et les musaraignes (ex. : *Sorex*, *Neomys* et *Blarina*) dans les cycles enzootiques de transmission des spirochètes a été soulignée dans plusieurs études tant en Europe qu'en Amérique du Nord (Mather et al. 1989, Telford et al. 1990, Lane and Loye 1991, Gern et al. 1998, Vourc'h et al. 2007).

Par ailleurs, le suivi des micromammifères est une méthode de détection plus sensible dans les régions où la densité des tiques est faible comparativement à d'autres méthodes de collecte comme la flanelle et les trappes à CO₂ (Ginsberg and Ewing 1989).

ii) Mammifères de taille moyenne

Les mammifères de taille moyenne comme le raton laveur (*Procyon lotor*), les opossums (*Didelphis virginiana*), et les lièvres (ex. : *Lepus europaeus* et *L. timidus*) sont impliqués à des degrés divers dans les cycles enzootiques de transmission des spirochètes en Europe et en Amérique du Nord (Talleklint et al. 1993, Humair and Gern 1998, LoGiudice et al. 2003, Lane et al. 2005, Hanincova et al. 2006). En Amérique du Nord, le raton laveur fut un temps suspecté d'être un hôte réservoir relativement compétent (Daniels and Fish 1995), cependant son rôle à ce titre est soumis à caution étant donné les faibles prévalences d'infection de *B. burgdorferi* observées (1,3%) (LoGiudice et al. 2003).

iii) Mammifères de grande taille : les cerfs de Virginie

L'association positive entre l'abondance d'*I. scapularis* et la densité des cerfs de Virginie (*Odocoileus virginianus*) est bien documentée dans l'Est de l'Amérique du Nord (Wilson et al. 1988, Wilson et al. 1990, Magnarelli et al. 1993, Magnarelli et al. 1995, Ginsberg and Zhioua 1999, Rand et al. 2003). L'abandon de terres agricoles qui se sont transformées en terrains boisés vers le milieu du XX^e siècle aurait contribué à la croissance des populations du cerf de Virginie et à l'expansion de la tique *I. scapularis* (Wilson et al. 1984, Schulze et al. 1986a, Godsey et al. 1987, Anderson et al. 1990).

Le rôle des cerfs de Virginie dans le cycle de transmission de la maladie de Lyme et d'autres maladies transmises par la tique *I. scapularis* est reconnu grâce à la surveillance de l'infestation par *I. scapularis* de cerfs abattus en période de chasse (Loken et al. 1985, Magnarelli et al. 1986, Kitron et al. 1992, Amerasinghe et al. 1993, Gill et al. 1993, Magnarelli et al. 1995, Riehle and Paskewitz 1996, Cortinas and Kitron 2006). Le cerf de Virginie est l'hôte principal des tiques *I. scapularis* adultes (Piesman et al. 1979, Wilson et al. 1990) et est essentiel à la stabilité et au développement des populations de tique (Wilson and Spielman 1985, Wilson et al. 1988, Keefe et al. 2009). Comme ils sont très abondants et qu'ils fournissent des estimés précis de la distribution régionale et de l'abondance de la tique, les cerfs de Virginie s'avèrent des sentinelles très utiles pour la détection de populations de la tique *I. scapularis* et des agents pathogènes potentiellement transmissibles (Spielman et al. 1985, Lastavica et al. 1989, Cortinas and Kitron 2006, Cortinas 2007, Keefe et al. 2009).

En Amérique du Nord, les cerfs de Virginie sont considérés comme des réservoirs compétents de l'agent *Anaplasma phagocytophilum* (Massung et al. 2005) mais comme des réservoirs incompetents pour la bactérie *B. burgdorferi* (Loken et al. 1985, Telford et al. 1988, Lacombe et al. 1993). De plus, ils semblent réfractaires à l'infection par *Babesia microti* (Piesman et al. 1979). En Europe, d'autres espèces de cervidés (*Capreolus capreolus*, *Cervus elaphus*) sont des réservoirs incompetents ou marginalement compétents de *B. burgdorferi* (Jaenson and Talleklint 1992, Matuschka et al. 1993).

Étant donné la lyse de la bactérie lors de l'activation du complément par le système immunitaire des cerfs, une faible prévalence de *B. burgdorferi* chez les tiques *I. scapularis* se nourrissant sur les cerfs de Virginie est donc attendue (Telford et al. 1988, Kurtenbach et al. 1998). Malgré tout, l'utilisation des tiques collectées sur les cerfs de Virginie peut être adéquate pour déterminer la répartition

géographique de *Borrelia* spp. ou d'autres agents pathogènes présents dans les populations d'*I. scapularis* (Magnarelli et al. 1986, Gill et al. 1993, Magnarelli et al. 1995, Keefe et al. 2009).

Les oiseaux migrants

En plus des mammifères, les oiseaux peuvent être des hôtes de tiques ou réservoirs de maladies vectorielles. Les agents pathogènes de maladies vectorielles et les tiques vectrices peuvent se propager suivant les mouvements des oiseaux infestés. Au Canada et aux États-Unis, plusieurs études se sont intéressées au rôle des oiseaux migrants dans la dissémination de la tique *I. scapularis* et de l'agent *B. burgdorferi* (Anderson et al. 1986, Schulze et al. 1986a, Magnarelli et al. 1992, Battaly and Fish 1993, Rand et al. 1998, Richter et al. 2000, Scott et al. 2001, Ginsberg et al. 2005, Morshed et al. 2005, Ogden et al. 2008b, Scott et al. 2010, Leighton et al. 2012). La contribution des différentes espèces d'oiseaux migrants dans l'introduction du complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi* varie selon leur qualité d'hôte en termes de niveau d'infestation par des tiques immatures et de capacité en tant que réservoir (Tableau IV). Un exemple analogue est observé en Espagne. Des oiseaux migrants en provenance d'Afrique ont importé la tique *Hyalomma marginatum*, ce qui a eu pour résultat l'émergence de virus pathogènes pour l'Homme (Gale et al. 2012). Les oiseaux migrants participent également au cycle de transmission du Virus du Nil Occidental (VNO). D'une part ils transportent le virus sur de longues distances, d'autre part, ils établissent le virus dans la population de moustiques de leur zone de nidification (Peterson et al. 2004). Les études sur les maladies transmises par les tiques ont en commun d'évaluer la probabilité d'introduction des tiques via les oiseaux migrants infestés, d'estimer la probabilité de survie de ces tiques dans l'environnement ciblé (ex. : indice de risque spatial lié aux tiques introduites) et

d'analyser le risque associé à l'émergence de ces maladies vectorielles (Ogden et al. 2008b, Gale et al. 2012, Leighton et al. 2012).

Dans l'Est de l'Amérique du Nord, plusieurs espèces d'oiseaux migrateurs sont impliquées dans la dispersion de la tique *I. scapularis* et de l'agent *B. burgdorferi* : des larves et des nymphes ont été collectées sur plus de 50 espèces d'oiseaux (Tableau IV) (Anderson 1988, Ginsberg et al. 2005, Ogden et al. 2008b, Tsao 2009, Scott et al. 2010). Plus spécifiquement au Québec, on estime qu'au moins 40 de ces espèces peuvent être des hôtes potentiels des stades immatures de la tique *I. scapularis* (Anderson 1988). Dans une étude d'Ogden (2008c), on estime que ces oiseaux migrateurs dispersent de 50 à 175 millions de tiques *I. scapularis* chaque printemps, d'où l'importance de ces hôtes dans la dispersion de stades immatures de la tique *I. scapularis* sur un grand territoire. Une étude de Leighton (2012) suggère que la distance maximale de transport des tiques *I. scapularis* par les oiseaux est de 425 km, en supposant que les oiseaux migrent en moyenne de 80 km par jour.

Les oiseaux migrateurs sont davantage infestés par les nymphes et rarement par les larves (Ogden et al. 2008b). La prévalence d'infection par *B. burgdorferi* chez les tiques immatures collectées sur ces oiseaux est également faible, de l'ordre de 8 à 15 % (Ogden et al. 2008c). Les oiseaux migrateurs contribuent donc de façon significative à la dispersion des nymphes de *I. scapularis* et marginalement à la dispersion de l'agent *B. burgdorferi* (Ogden et al. 2008c). Alors que le moqueur chat (*Dumetella carolinensis*) semble incompetent à transmettre l'agent, trois espèces communes au Québec, le merle d'Amérique (*Turdus migratorius* L.), le bruant chanteur (*Melospiza melodia*) et le cardinal rouge (*Cardinalis cardinalis*), sont des réservoirs compétents de *B. burgdorferi* (Stafford et al. 1995, Rand et al. 1998, Richter et al. 2000, Ginsberg et al. 2005, Tsao 2009).

Les facteurs environnementaux

L'éco-épidémiologie incorpore la structure des éléments du paysage dans les écosystèmes et considère l'hétérogénéité spatiale des composantes biotiques et abiotiques comme le mécanisme sous-jacent qui détermine la structure des écosystèmes. Les outils tels que les systèmes d'information géographique (SIG), le système de positionnement géographique (GPS), les images satellites (télédétection) et les statistiques spatiales permettent d'analyser et d'intégrer la composante spatiale en épidémiologie des maladies à transmission vectorielle dans les programmes de recherche, de surveillance et de contrôle. Les populations impliquées (vecteurs, hôtes, pathogènes), l'efficacité de la transmission et l'amplification des agents pathogènes varient dans l'espace, créant ainsi une surface hétérogène qui peut être prise en compte par ces outils (Kitron 1998, Reisen 2010). L'idée étant de mieux décrire la capacité d'un écosystème à maintenir des populations de vecteurs, d'hôtes et de pathogènes. Un résumé de la littérature sur les associations statistiquement significatives entre les facteurs environnementaux biotiques et abiotiques et le cycle de transmission de la maladie de Lyme (c.-à-d. les analyses spatiales et statistiques de données entomologiques ou de données épidémiologiques) en Amérique du Nord est présenté dans le Tableau V.

Facteurs biotiques et impact de la biodiversité

i) L'habitat

Les caractéristiques de l'habitat interviennent sur les dynamiques de populations du vecteur, des hôtes et, par ricochet, des agents pathogènes. Dans la littérature, plusieurs études ont déterminé certains types d'habitats favorisant le complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi*. Les forêts de feuillus

seraient les sites les plus susceptibles d'abriter ce complexe (Ginsberg and Ewing 1989, Adler et al. 1992, Jaenson and Talleklint 1992, Bertrand and Wilson 1996, Lindsay et al. 1999b, Lindsay et al. 1999a, Wang et al. 1999, Guerra et al. 2002, Allen et al. 2003, Lubelcyk et al. 2004, Ostfeld 2011). Dans une étude réalisée à Long Point en Ontario, les peuplements dominés par l'érable à sucre (*Acer saccharum*) et le chêne rouge (*Quercus rubra*) étaient associés à une plus grande abondance des stades immatures d'*I. scapularis* (Lindsay et al. 1999a). Cette observation a aussi été notée aux États-Unis (Guerra et al. 2002). Les forêts de feuillus offrent typiquement une litière épaisse et abondante qui permet de maintenir les conditions microclimatiques nécessaires à la survie des stades immatures et matures de la tique *I. scapularis* (Ginsberg and Ewing 1989, Adler et al. 1992, Stafford 1994, Schulze and Jordan 1995, Schulze et al. 1995, Bertrand and Wilson 1996, Lindsay et al. 1999a, Jones and Kitron 2000). Les habitats de feuillus sont donc préférables à la recherche des tiques.

Les caractéristiques d'un habitat comme les espèces d'arbres et d'arbustes ou l'âge du peuplement écoforestier, la hauteur et la densité de la végétation (arbres mûres et plantes forestières) peuvent servir d'indices pour évaluer la maturité d'une forêt, le degré de perturbation, la biodiversité et leur impact sur le cycle de transmission de la maladie de Lyme (Ogden et al. 2006b). La fragmentation forestière, c'est-à-dire le morcellement des forêts, qu'il soit d'origine anthropique ou naturelle, est associée à une plus grande abondance de nymphes d'*I. scapularis* (Allen et al. 2003). La réduction de la diversité des espèces hôtes, résultant de la fragmentation forestière, a pour effet d'accroître la densité des espèces généralistes (ex. : *P. leucopus*) (Ostfeld and Keesing 2000, Brownstein et al. 2005). Ainsi, la taille d'un fragment forestier peut être une mesure indirecte de la densité et de la diversité des hôtes (Nupp and Swihart 1996). De plus, la fragmentation est aussi associée à une augmentation de la prévalence de *B. burgdorferi* chez les nymphes (Allan et al. 2003).

La biodiversité associée à un habitat peut être décrite selon la diversité de la végétation (arbres matures et plantes forestières) et la diversité de la communauté des hôtes abrités. Peu d'études ont identifié une association significative entre la densité des arbres et la diversité des hôtes (Paquette and Messier 2011). D'autres études sont donc nécessaires pour comprendre les relations entre la richesse (nombre d'espèces), la diversité (composition d'une communauté), la densité de la végétation et des hôtes et la survie du complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi*.

ii) La communauté d'hôtes

L'effet de la diversité des hôtes a été abondamment étudié pour le complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi* (Randolph and Dobson 2012). L'effet de dilution est le terme utilisé pour décrire une réduction de la transmission des micro- (*B. burgdorferi*) et macro-parasites (*I. scapularis*) lorsque la diversité des hôtes est grande (LoGiudice et al. 2003, Telfer et al. 2005, Keesing et al. 2006, LoGiudice et al. 2008, Keesing et al. 2010, Wood and Lafferty 2012). L'effet de dilution a d'abord été décrit dans les études sur l'invasion des plantes non indigènes et leur impact sur la diversité des plantes dans un écosystème donné avant d'être extrapolé à l'invasion des microorganismes pathogènes (Powell et al. 2011, Swei et al. 2011a, Andreou et al. 2012, Swei et al. 2012). En raison du comportement généraliste de la tique *I. scapularis*, l'augmentation de la diversité des espèces hôtes augmente la possibilité que les tiques se détournent des hôtes réservoirs compétents (ex.: *P. leucopus* principalement) pour des réservoirs moins efficaces de *B. burgdorferi*. Le résultat de ce phénomène pourrait se traduire par le concept d'une dilution de l'infection⁵ (Keesing et al. 2009, Keesing et al. 2010). Cependant, l'augmentation de l'abondance des hôtes ainsi que de leur diversité peut accroître l'abondance des tiques. L'effet net peut donc être autant la dilution que l'amplification

⁵ Effet de dilution : dilution de l'infection par une diminution de la prévalence d'infection ou de la densité des tiques infectées.

du risque de la maladie de Lyme (Ogden and Tsao 2009, Swei et al. 2011b). Ainsi, une controverse existe autour de l'effet de dilution de par le nombre limité des données sur le sujet (Dobson 2004, Begon 2008, Randolph and Dobson 2012).

Facteurs abiotiques

i) Climat

Plusieurs variables du climat peuvent affecter directement la survie, l'activité, la phénologie⁶ et le développement de la tique *I. scapularis* et, indirectement, la dynamique de population des hôtes vertébrés de la tique ou des réservoirs des agents pathogènes (ex. : *P. leucopus*) (Lindsay et al. 1995, Ogden et al. 2004, Randolph 2004b, Ogden et al. 2005, Ogden et al. 2008a). Diverses études se sont intéressées aux associations entre la distribution des données entomologiques (tiques), la distribution des données épidémiologiques (cas humains) et les conditions climatiques (voir Tableau V).

Au Canada plus spécifiquement, les moyennes de température et de précipitation sont reconnues comme des facteurs importants pour déterminer les régions où *I. scapularis* peut s'établir, que ce soit au moyen d'études de modélisation théorique (Ogden et al. 2004-2005-2008a) ou de données de surveillance passive (Ogden et al. 2010; Leighton et al. 2012). Ces facteurs doivent donc être inclus dans l'évaluation de l'impact de conditions climatiques sur le cycle de transmission de la maladie de Lyme.

ii) Topographie et type de sol

⁶ La phénologie est l'étude de l'apparition d'événements périodiques dans le monde vivant (annuels le plus souvent), déterminée par les variations saisonnières du climat.

Le type de sol (composition, litière, drainage) et le relief des sites à l'étude (aspect et gradient de la pente) sont également reconnus comme des éléments importants pour la dynamique du cycle de transmission de la maladie de Lyme (Lee et al. 1988). Ces facteurs abiotiques affectent la survie de la tique en voie de développement dans la litière (tique en quête). Si l'habitat est très sec, la tique se déshydrate, alors que s'il est très humide, elle risque la noyade (Ogden et al. 2006b). Dans la littérature, un gradient de pente élevé et un drainage faible représentent des habitats moins propices à la survie des tiques (Glass et al. 1994, Guerra et al. 2002). La litière composée principalement de feuilles mortes influence aussi la survie des tiques. Une litière profonde offre un refuge plus isolant et protège les tiques des variations de température (Gassner et al. 2011).

Tableaux

Tableau I. Distribution géographique de *B. burgdorferi s.l.* en Amérique du Nord

Espèces	Tiques vectrices	Distribution géographique
Pathogènes		
<i>B. burgdorferi s.s.</i>	<i>Ixodes scapularis</i>	Sud-Est du Canada; Nord-Est et centre nord des États-Unis
	<i>Ixodes pacificus</i>	Ouest du Canada et des États-Unis
Minimalement pathogènes		
<i>B. andersonii</i>	<i>Ixodes dentatus</i>	Est des États-Unis
<i>B. bissettii</i>	<i>Ixodes spinipalpis</i>	Ouest des États-Unis
	<i>Ixodes pacificus</i>	

*adapté (Steere et al. 2004; Kurtenbach et al. 2006)

Tableau II. Espèces des tiques vectrices de maladies transmissibles à l'homme en Amérique du Nord

Sous-Ordre	Espèces	Distribution géographique	Agents pathogènes
<i>Ixodidae</i>	<i>Amblyomma americanum</i>	Est des États-Unis	<i>E. chaffeensis</i> , <i>B. lonestari</i> , <i>F. tularensis</i>
<i>Ixodidae</i>	<i>Dermacentor andersoni</i>	Ouest des États-Unis	<i>R. rickettsii</i> , CTFV, <i>F. tularensis</i>
<i>Ixodidae</i>	<i>Dermacentor occidentalis</i>	États de la Californie et Oregon	<i>R. rickettsii</i> , <i>C. burnetti</i> , <i>F. tularensis</i> , CTFV
<i>Ixodidae</i>	<i>Dermacentor variabilis</i>	Est, Ouest de l'Amérique du Nord	<i>R. rickettsii</i> , <i>F. tularensis</i>
<i>Ixodidae</i>	<i>Ixodes cookei</i>	Amérique du Nord	Virus de Powassan
<i>Ixodidae</i>	<i>Ixodes pacificus</i>	Ouest de l'Amérique du Nord	<i>B. burgdorferi</i> , <i>A. phagocytophilum</i> , <i>Babesia microti</i>
<i>Ixodidae</i>	<i>Ixodes scapularis</i>	Est, Mid-Ouest de l'Amérique du Nord	<i>B. burgdorferi</i> , <i>A. phagocytophilum</i> , <i>Babesia microti</i>
<i>Argasidae</i>	<i>Ornithodoros hermsi</i>	Ouest de l'Amérique du Nord	<i>B. hermsii</i>
<i>Argasidae</i>	<i>Ornithodoros turicata</i>	Sud-Ouest des États-Unis	<i>B. turicatae</i>

Abréviations : A, *Anaplasma*; B, *Borrelia*; Ba, *Babesia*; C, *Coxiella*; CTFV, virus de la fièvre du Colorado; E, *Ehrlichia*; R, *Rickettsia*; F, *Francisella*

*adapté (Anderson et Magnarelli, 2008)

Tableau III. Mammifères sauvages étant des hôtes de la tique *I. scapularis* et de la bactérie *B. burgdorferi* dans l'Est de l'Amérique du Nord

Nom commun	Nom latin	Stade d' <i>I. scapularis</i>			<i>B. burgdorferi</i>		
		Larve	Nymphe	Adulte	Compétent	Moins compétent	Incompétent
<i>Micromammifères</i>							
Campagnol à dos roux	<i>Myodes (clethrionomys) gapperi</i>	x	x		x		
Campagnol des champs	<i>Microtus pennsylvanicus</i>	x	x				
Campagnol des plages	<i>Microtus breweri</i> ^a		x				
Campagnol sylvestre	<i>Microtus pinetorum</i>	x					
Grande musaraigne	<i>Blarina brevicauda</i>	x	x		x		
Musaraigne cendrée	<i>Sorex cinereus</i>	x	x		x		
Musaraigne fuligineuse	<i>Sorex fumeus</i>	x	x		x		
Souris à pattes blanches	<i>Peromyscus leucopus</i>	x	x		x		
Souris sauteuse des champs	<i>Zapus hudsonicus</i>	x	x				
Souris sauteuses des bois	<i>Napaeozapus insignis</i>	x	x				
Souris sylvestre	<i>Peromyscus maniculatus</i>	x	x				
Tamias rayé	<i>Tamias striatus</i>	x	x		x		
Taupe à queue glabre	<i>Scalopus aquaticus</i>	x					
Écureuil gris	<i>Sciurus carolinensis</i>	x	x	x			x
Écureuil roux	<i>Tamiasciurus hudsonicus</i>	x	x				

Nom commun	Nom latin	Stade d' <i>I. scapularis</i>			<i>B. burgdorferi</i>		
		Larve	Nymphe	Adulte	Compétent	Moins compétent	Incompétent
<i>Mammifères de taille moyenne</i>							
Belette à longue queue	<i>Mustela frenata</i>	x					
Belette pigmée	<i>Mustela novalis</i>						
Coyote	<i>Canis latrans</i>					x	
Hermine	<i>Mustelae erminae</i>						
Lapin à queue blanche	<i>Sylvilagus floridanus</i>	x	x				
Marmotte commune	<i>Marmota monax</i>	x	x	x			
Moufette rayée	<i>Mephitis mephitis</i>	x	x	x			
Opossum d'Amérique du Nord	<i>Didelphis virginiana</i>	x	x	x			x
Petit polatouche	<i>Glaucomys volans</i>	x	x				
Rat surmulot	<i>Rattus norvegicus</i>	x	x				
Raton laveur	<i>Procyon lotor</i>	x	x	x			x
Renard gris	<i>Urocyon cinereoargenteus</i>	x	x	x			
Lièvre d'Europe	<i>Lepus europaeus (introduit)</i>				x		
Renard roux	<i>Vulpes vulpes</i>	x	x	x			
<i>Mammifères de grande taille</i>							
Cerf de virginie	<i>Odocoileus virginianus</i>	x	x	x			x
Ours noir	<i>Ursus americanus</i>			x			

*adapté (Anderson et al. 1988, Tsao et al. 2009)

^a : espèce absente au Canada et au Québec

Tableau IV. Hôtes aviaires de la tique *I. scapularis* et de la bactérie *B. burgdorferi* dans l'Est de l'Amérique du Nord

Nom commun	Nom latin	Stade d' <i>I. scapularis</i>		<i>B. burgdorferi</i>		
		Larve	Nymphe	Compétent	Moins compétent	Incompétent
Bécasse d'Amérique	<i>Scolopax minor</i>		x			
Bruant à gorge blanche	<i>Zonotrichia albicollis</i>	x	x			
Bruant chanteur	<i>Melospiza melodia</i>	x	x		x	
Bruant des champs	<i>Spizella pusilla</i>	x	x			
Bruant fauve	<i>Passerella iliaca</i>	x				
Bruant des marais	<i>Melospiza georgiana</i>	x	x			
Bruant de Lincoln	<i>Melospiza lincolnii</i>	x	x			
Bruant familier	<i>Spizella passerina</i>	x	x			
Cardinal à poitrine rose	<i>Pheuctitus ludovicianus</i>	x	x			
Cardinal rouge	<i>Cardinalis cardinalis</i>	x	x		x	
Carouge à épaulettes	<i>Agelaius phoeniceus</i>	x	x			
Colin de virginie	<i>Colinus virginianus</i>	x	x			
Dindon sauvage	<i>Meleagris gallopavo</i>		x			
Étourneau sansonnet	<i>Sturnus vulgaris</i>		x			
Geai bleu	<i>Cyanocitta cristata</i>	x	x			
Grimpereau brun	<i>Certhia americana</i>		x			
Grive à dos olive	<i>Catharus ustulatus</i>	x	x			
Grive des bois	<i>Hylocichla mustelina</i>	x	x			
Grive fauve	<i>Catharus fuscescens</i>	x	x			
Grive solitaire	<i>Catharus guttatus</i>	x	x			
Grive à joues grises	<i>Catharus minimus</i>	x	x			
Junco ardoisé	<i>Junco hyemalis</i>	x	x			

Nom commun	Nom latin	Stade d' <i>I. scapularis</i>		<i>B. burgdorferi</i>		
		Larve	Nymphe	Compétent	Moins compétent	Incompétent
Merle d'Amérique	<i>Turdus migratorius L.</i>	x	x	x		
Mésange à tête noire	<i>Parus atricapillus</i>	x	x			
Mésange bicolore	<i>Parus bicolor</i>	x	x			
Moineau domestique	<i>Passer domesticus</i>		x			
Moqueur chat	<i>Dumetella carolinensis</i>	x	x		x	x
Moqueur roux	<i>Toxostoma rufum</i>	x	x			
Moucherolle phébi	<i>Sayornis phoebe</i>	x	x			
Paruline à ailes bleues	<i>Vermivora pinus</i>	x	x			
Paruline à capuchon	<i>Wilsonia critina</i>		x			
Paruline couronnée	<i>Seiurus aurocapillus</i>	x	x			
Paruline des pins	<i>Dendroica pinus</i>	x				
Paruline des prés	<i>Dendroica discolor</i>		x			
Paruline des ruisseaux	<i>Seiurus noveboracensis</i>	x				
Paruline du Canada	<i>Wilsonia canadensis</i>	x	x			
Paruline du Kentucky	<i>Oporonis formosus</i>		x			
Paruline hochequeue	<i>Seiurus motacilla</i>		x			
Paruline jaune	<i>Dendroica petechia</i>	x	x			
Paruline masquée	<i>Geothlypis trichas</i>	x	x			
Paruline noire et blanc	<i>Mniotilta varia</i>		x			
Paruline polyglotte	<i>Ichtheria virens</i>	x				
Paruline à flancs marrons	<i>Setophaga pensylvanica</i>		x			
Passerin Indigo	<i>Passerina cyanea</i>		x			
Paruline vermivore	<i>Helmitheros vermivorus</i>	x	x			
Quiscale bronzé	<i>Quiscalus quiscula</i>	x	x			
Roselin familier	<i>Carpodacus mexicanus</i>	x	x			
Roselin pourpré	<i>Carpodacus purpureus</i>	x	x			

Nom commun	Nom latin	Stade d' <i>I. scapularis</i>		<i>B. burgdorferi</i>		
		Larve	Nymphe	Compétent	Moins compétent	Incompétent
Sittelle à poitrine blanche	<i>Sitta carolinensis</i>	x	x			
Tohi à flancs roux	<i>Pipilo erythrophthalmus</i>	x	x			
Troglodytes de Caroline	<i>Thryothorus ludovicianus</i>	x	x			
Troglodytes familier	<i>Troglodytes aedon</i>	x	x			
Troglodytes d'hiver	<i>Troglodytes hiemalis</i>		x			
Vacher à tête brune	<i>Molothrus ater</i>	x	x			
Viréo à yeux rouges	<i>Vireo olivaceus</i>		x			
Viréo aux yeux blancs	<i>Vireo griseus</i>	x	x			

*adapté (Anderson et al. 1988, Tsao et al. 2009, Ogden et al. 2008, Ginsberg et al. 2005)

Tableau V. Sommaire de la littérature sur les associations statistiquement significatives entre le cycle de transmission de la maladie de Lyme et les facteurs environnementaux en Amérique du Nord

Variables de l'environnement	Type de données	Sources
<i><u>Habitat</u></i>		
Arbustes indicateurs de zones humides	Site	(Lubelcyk et al. 2004)
Canopé	Site	(Lubelcyk et al. 2004)
Catégories d'habitat	Site	(Duffy et al. 1994, Ostfeld et al. 1995)
Composition de la litière	Site	(Lubelcyk et al. 2004)
Couvert d'arbres (Moy)	Inventaire	(Prusinski et al. 2006)
Couvert d'arbustes (Moy)	Inventaire	(Schulze and Jordan 2005, Prusinski et al. 2006)
Couverture terrestre	Satellite/site/inventaire	(Stafford and Magnarelli 1993, Glass et al. 1994, Frank et al. 1998, Guerra et al. 2002, Bunnell et al. 2003)
Distance à la rivière	Site	(Kitron et al. 1991)
Distance au bord de la forêt ou l'eau	Satellite	(Bunnell et al. 2003)
Distance au parc	Site	(Kitron et al. 1991)
Forêt de conifères	Inventaire	(Guerra et al. 2002)
Forêt de feuillus	Inventaire	(Guerra et al. 2002)
Forêt humide	Inventaire	(Guerra et al. 2002)
Forêt sèche	Inventaire	(Guerra et al. 2002)
Présence/Densité des arbustes	Site/inventaire	(Lubelcyk et al. 2004, Prusinski et al. 2006)
Taille/Isolement du fragment forestier	Site/inventaire	(Allen et al. 2003, Brownstein et al. 2005)
Végétation/Densité de la végétation	Site/Inventaire	(Kitron et al. 1991, Prusinski et al. 2006)
<i><u>Climat</u></i>		
Déficit de saturation	Site	(Diuk-Wasser et al. 2006)
Heures ensoleillées	Site	(Eisen et al. 2006)
Indice d'humidité/végétation	Satellite	(Dister et al. 1997, Rodgers and Mather 2006)

Variables de l'environnement	Type de données	Sources
Latitude	Site	(Diuk-Wasser et al. 2006)
Longueur du jour	Satellite	(Goddard 1992)
Maximum-température mensuelle (Min)	Satellite	(Brownstein et al. 2003)
Maximum-température mensuelle (Moy)	Satellite	(Brownstein et al. 2003)
Minimum-température mensuelle (Moy)	Satellite	(Brownstein et al. 2003)
Moyenne-température mensuelle (Min)	Satellite	(Brownstein et al. 2003)
NDVI	Satellite	(Estrada-Pena 2002, Eisen et al. 2006)
Pression vapeur mensuelle (E-T)	Satellite	(Brownstein et al. 2003)
Température (Moy)	Satellite/site	(Goddard 1992, Estrada-Pena 2002, Diuk-Wasser et al. 2006)
<i><u>Topographie</u></i>		
Aspect/Gradient de la pente	Site	(Li et al. 2000, Talleklint-Eisen and Lane 2000)
Élévation (Moy)	Site	(Dister et al. 1997)
Élévation élevée	Satellite	(Bunnell et al. 2003)
Élévation faible	Satellite	(Bunnell et al. 2003)
<i><u>Sol</u></i>		
Roches sédimentaires/précambriennes	Inventaire	(Guerra et al. 2002)
Sol acide	Inventaire	(Guerra et al. 2002)
Sol argileux	Site	(Guerra et al. 2002)
Sol fertile	Inventaire	(Guerra et al. 2002)
Texture du sol	Inventaire	(Kitron et al. 1991, Glass et al. 1994, Guerra et al. 2002, Bunnell et al. 2003)

Exposé et analyse des résultats

La section suivante vise à présenter les différents articles scientifiques rédigés dans le cadre de ce travail de thèse. Ces articles ont tous été réalisés à partir des données collectées en 2007 et 2008, dans le cadre du projet d'épidémiologie des maladies vectorielles dans le Sud-Ouest du Québec, en partenariat avec l'Institut national de santé publique du Québec, l'Agence de la santé publique du Canada et l'Université de Montréal. Le formulaire d'autorisation d'utilisation des animaux obtenus préalablement à l'acquisition de ces données est inclus en Annexe 1.

Article 1: Associations between *Ixodes scapularis* ticks and small mammal hosts in a newly-endemic zone in southeastern Canada: implications for *Borrelia burgdorferi* transmission⁷

Bouchard, C.¹, Beauchamp G.¹, Nguon, S.², Trudel, L.³, Milord, F.², Lindsay, L.R.⁴, Bélanger, D.¹, Ogden, N.H.^{1,5}

¹ *Groupe de recherche en épidémiologie des zoonoses et santé publique, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada*

² *Direction des risques biologiques et de la santé au travail, Institut national de santé publique du Québec, Québec, Canada*

³ *Laboratoire de santé publique du Québec, Institut national de santé publique du Québec, Québec, Ste-Anne de Bellevue, Canada*

⁴ *Zoonotic Diseases and Special Pathogens, Public Health Agency of Canada, National Microbiology Laboratory, Winnipeg, Manitoba, Canada*

⁵ *Zoonoses Division, Centre for Food-borne, Environmental and Zoonotic Infectious Diseases, Public Health Agency of Canada, Ottawa, Ontario, Canada*

⁷ Article publié dans le journal *Ticks and tick-borne diseases* (2011) vol.2(4) pp.183-190.

Abstract

Immature *Ixodes scapularis* infestation, and *Borrelia burgdorferi* infection, of wild small mammals were studied from June to October in 2007 and from May to October in 2008 at 71 study sites in a zone where *I. scapularis* populations and environmental Lyme disease risk are emerging in southwestern Quebec. Seasonal host-seeking activity of immature *I. scapularis* was similar to patterns reported previously in Canada and the USA: nymphal activity peaked in spring while larval activity peaked in late summer. Synchronous activity of nymphs with some larvae was observed in late spring, which could favour establishment of *B. burgdorferi* strains that cause short-lived infections in their hosts. White-footed mice (*Peromyscus leucopus*), deer mice (*Peromyscus maniculatus*), chipmunks (*Tamias striatus*) and red squirrels (*Tamiasciurus hudsonicus*) carried 92.0 % of the larvae and 94.2% of the nymphs collected. Adult male white-footed mice carried significantly higher numbers of both larval and nymphal *I. scapularis* than other species and classes of small mammals (different demographic groups or physiological status: age, sex, sexual activity). We conclude that seasonality and host-association were comparable to previous studies in North America, even in the context of a newly-endemic pattern of low infection prevalence and low densities of host-seeking and feeding *I. scapularis* in southwestern Quebec. Our studies suggest that *B. burgdorferi* transmission cycles are focused on adult male mice (carried 35% of all feeding ticks collected in the study), so control methods targeting this class of hosts may be particularly effective. However, our study also suggested that habitats containing a diverse host structure may dilute transmission cycles by partitioning of nymphal and larval ticks on different host species.

Keywords: *Borrelia burgdorferi*; host associations; immature *Ixodes scapularis*; *Peromyscus* spp.; seasonality; ticks.

Introduction

Lyme disease is a zoonosis caused by bacteria of the *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex. The tick-borne pathogen *Borrelia burgdorferi sensu stricto* (referred to hereafter as *B. burgdorferi*), the agent of Lyme borreliosis in parts of mid-western and northeastern North America, is transmitted by blacklegged ticks, *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) (Spielman et al. 1979, Burgdorfer et al. 1982, Piesman et al. 1986). It is of growing concern in Canada because *I. scapularis* ticks are expanding their geographic range northwards into southern parts of eastern and central Canada (Ogden et al. 2009, Ogden et al. 2010).

Studies suggest that a warming climate may facilitate establishment of blacklegged ticks, carried northwards by migratory birds from endemic areas in the United States of America (USA) and Canada. In Canada, a Lyme disease endemic area has been defined as a locality where the three feeding stages of the tick (larva, nymph and adult) are present for two consecutive years and laboratory results confirm the presence of *B. burgdorferi* in some ticks and/or hosts (Health Canada 1991). Confirmation of the existence of a new endemic area entails active field surveillance for *I. scapularis* and *B. burgdorferi*. Such surveillance, which involves flagging to collect questing ticks and capture of small mammal hosts to collect blood samples and feeding ticks, was conducted in southwestern Quebec during 2007 and 2008 (Ogden et al. 2008, Ogden et al. 2010). These studies identified the locations of establishing populations of ticks, and emerging endemic areas for Lyme disease. They also provided data that are analysed here to explore to what extent the ecology of *I. scapularis* in this region of emergence of Lyme disease risk is comparable with that already documented for endemic areas in North America.

In particular we investigated to what extent the host associations and seasonality of immature *I. scapularis* were similar to those in previously studied endemic areas, for three reasons. The first reason is practical: we want to ensure that any future field surveillance for ticks coincides with seasonal tick activity periods to reduce the likelihood of false negative results. Second, seasonality of feeding by immature ticks (specifically the synchrony of attachment of larval and nymphal stages) may determine the nature of *B. burgdorferi* transmission cycles and the strains of *B. burgdorferi* that can be supported (Hoen et al. 2009, Ogden et al. 2010). Third, the association of immature ticks with different host species and different classes of host species (i.e. age, sex, sexual activity) can impact on the force of infection of *B. burgdorferi* transmission cycles. An overarching consideration is the relative contribution of reservoir competent host species to transmission cycles in terms of their density and the numbers of ticks they carry (Ostfeld 2011). Transmission may be enhanced if nymphal and larval ticks parasitize the same species and demographic groups of host animals (Randolph et al. 1999, Norman et al. 1999, Bown et al. 2003), or diluted if larvae and nymphs are segregated on different species or demographic groups of the same species (Keesing et al. 2009, Bown et al. 2003).

Materials and methods

Study areas

Active field surveillance was carried out each month from June to October in 2007 and May to October in 2008 in southwestern Quebec at 71 sites: 46 sites were visited in 2007 and an additional 25 sites were visited in 2008. The 71 sites were located in three different regions of Quebec (Montérégie, Estrie and Montréal) covering 5,325 km² (Figure 3). Thirteen of the 46 sites of 2007 were

revisited in 2008 to confirm the presence of different stages of *I. scapularis* for two consecutive years. Of these, 8 sites, selected on the basis of a high confidence that *I. scapularis* ticks were established at the sites (Ogden et al. 2008), were visited three times during 2008 to get a better picture of seasonal tick activity at individual sites. Therefore, we recorded data during first visits in 2007 and 2008 (one single visit per site from June to October in 2007 or from May to October in 2008) and during revisits in 2008 (1 or 3 visits per site from May to October in 2008).

Locations were selected within deciduous forests. Woodland containing maple trees (*Acer saccharum*) were expected to be favourable for *I. scapularis* (Lindsay et al. 1999a). Sites were selected from locations with suitable habitat based on the following criteria: i) zone of high or moderate risk for *I. scapularis* occurrence in risk maps (see methodology in Ogden et al. 2008); ii) maple woodlands that, if mixed, comprised predominantly deciduous trees; iii) having minimal dimensions of continuous woodland of 0.5 km²; iv) proximity of vehicular access.

Wild small mammal trapping

At each site, 150 ShermanTM live traps were placed in three parallel transects of 50 traps each (150 x 500 meter grid) for one or two consecutive days and nights. Traps were placed for two nights if less than 15 *Peromyscus* spp. mice (white-footed mice and deer mice) were captured on the first night. This sample size was required to give adequate statistical power for other study objectives, particularly determination of the geographic scope of establishment of *I. scapularis* ticks and *B. burgdorferi* in southwestern Quebec, which have been published elsewhere (Ogden et al. 2008, Ogden et al. 2010). Because this study design means that in some instances site visits comprised two rather than one night of trapping, rodent densities per visit are expressed as numbers of rodents captured per unit area, per trap night in the results. Traps were bedded with polyester fibre and

baited with moistened sunflower seeds. Traps were set along transects at each site at 16:00, were checked each morning at 7:00 and those containing animals were kept warm or cooled (depending on ambient conditions), prior to examination of the animals. All procedures were undertaken with appropriate ethical approval by the *Ministère des Ressources naturelles et de la Faune* of the Province of Quebec and the *Université de Montréal*.

Blood and tick collection and detection of B. burgdorferi infection.

Host-seeking ticks were collected by a standard effort of 3 person-hours of dragging a 1 m² white cotton flannel within the trapping grid at each site visit.

Feeding ticks were collected from trapped rodents according to the following protocol. Traps containing animals were placed into a 2 L plastic anaesthetic chamber and animals were anaesthetized by adding 0.5 to 1.0 ml 99.9% Isoflurane™ to cotton wool placed within the container. Following anaesthesia, animals were carefully removed from their trap within the container. The entire surface area of each animal was examined and attached ticks were removed with forceps and transferred to labelled vials containing 70% ethanol for transport to the *Laboratoire de santé publique du Québec* (LSPQ), Sainte-Anne-de-Bellevue, for species identification and thereafter to the National Microbiology Laboratory (NML), Winnipeg for testing for *B. burgdorferi* infection. For *Peromyscus* spp. mice, the following data were collected: species, weight, sex, age and reproductive condition (sexual activity) of adults. Visual identification of *P. leucopus* and *P. maniculatus* was confirmed by molecular methods performed at the *Laboratoire d'écologie moléculaire et évolution* at *Université de Montréal* using species-specific primers in multiplex-PCR as previously described (Tessier et al. 2004). Also for *Peromyscus* spp., age (juvenile, subadult and adult) was determined by a weight classification as described for *P. leucopus* (Linzey 1989) and *P. maniculatus* (Martell 1983). Whenever

possible, blood was collected from each mouse with a needle (23 gauge) and syringe directly from the heart or via the infra orbital sinus using 150 µl Natelson™ blood collecting tubes containing EDTA. In 2008, eastern chipmunks and red squirrels were also bled for serological analyses as more than 10% of *I. scapularis* were found on these rodents in 2007. All *Peromyscus* mice, chipmunks and red squirrels were humanely killed after blood and tick collection while all other small mammal species were released after examination for ticks.

Plasma were separated from the blood samples by centrifugation at 2,000 g for 6 minutes and kept frozen (-20°C) until shipment on dry ice to the NML for testing. All plasma were tested for IgG antibodies to *B. burgdorferi* using an in-house immunofluorescent assay, followed by a Western blot on reactive samples in 2007, and a two-tier ELISA and Western blot assay in 2008, as previously described (Hofmeister et al. 1999). DNA was extracted from larval and nymphal blacklegged ticks removed from hosts and tested for the presence of *B. burgdorferi* using a polymerase chain reaction (PCR) test. DNA was obtained using Qiagen® DNeasy® 96 Tissue kits (QIAGEN Inc., Mississauga, ON, Canada) optimized for recovery of low-copy number DNA from ticks, and extraction efficiency was assessed using primers specific for the tick 5.8S rRNA - 28S rRNA intergenic spacer (IGS). DNA was screened for evidence of *B. burgdorferi* infection using a multiplex real-time PCR targeting the 23S rRNA of *B. burgdorferi* as previously described (Courtney et al. 2004). *B. burgdorferi* infection was then confirmed in positive samples using primers targeting the *ospA* gene (Ogden et al. 2006).

Statistical analyses

Analyses of host infestation parameters were conducted on data from *I. scapularis*-positive locations only (at least one *I. scapularis* tick was found after dragging and/or examination of trapped

mammals). Data from all visits (first visits in 2007 and 2008 and revisits in 2008) at *I. scapularis*-positive sites were used in our statistical models.

Statistical analyses investigated whether or not we could reject three null hypotheses: i) that there were no differences amongst host species in the numbers of ticks they carried, ii) that there were no differences between the different species or groupings of *Peromyscus* (i.e., *P. leucopus*, *P. maniculatus* or *Peromyscus* species) in the numbers of ticks carried, and iii) within each *Peromyscus* species that there were no differences amongst individuals of different demographic groups or physiological status (age, sex, reproductive status) in the numbers of ticks that they carried.

Host infestation by *I. scapularis* was analysed using mixed effects negative binomial regression models in SAS v. 9.2 (Cary, N.C.) (PROC GENMOD). In these models the outcome variable was the count of either larvae or nymphs on the captured rodents. Models were fitted using generalized estimating equations using site number as a random effect to account for clustering of rodents by site.

We divided our data into different subsets for analyses, because different variables were collected depending on the host species. For *Peromyscus* spp., which were euthanized, individual animal variables such as their sex, age (based on a weight classification), sexual activity (reproductive status) were included as explanatory variables in our models. In contrast, other host species had less or irregular data recorded depending on duration of anaesthesia and therefore, no individual variables were tested for those species. For all three hypotheses, separate analyses were performed for larval and nymphal tick infestations because these stages are active at different times of the year. In all models we investigated season and for convenience, seasonality was defined and grouped as a variable with 3 categories (spring: May and June, summer: July and August, and autumn: September

and October). In all models we also accounted for any differences between years of sampling but because some sites visited in 2008 were sites that had been selected for revisits in 2008 on the basis of a relatively high density of ticks a three-category variable was used: data from 2007 first visits, data from 2008 first visits and data from 2008 revisits. Rodents in the latter category would be expected to carry particularly high numbers of ticks so in the results we present only differences between 2007 first visits and 2008 first visits, which would reflect interannual variations in tick abundance.

In our analyses of infestation of *Peromyscus* species, we also hypothesized that any effect of sex would be more pronounced in adult rodents, which may be more active than juveniles resulting in a higher chance of contact with ticks and which may be less resistant to ticks due to higher circulating testosterone levels in adult males (as discussed in Bown et al. 2003). Therefore, we investigated interactions between age and sex in these models. Standard regression diagnostic methods (PROC REG in SAS) were used to assess model fit and collinearity amongst explanatory variables.

The explanatory variables included in the five statistical developed models were:

Model 1 (All host species): season, year and species

Model 2 (*Peromyscus* spp. subset): season, year, species, sex, age (based on weight) and interaction term between sex and age (sex*age)

Model 3 (*P. leucopus* subset): season, year, sex, age and sex*age

Model 4 (*P. maniculatus* subset): season, year, sex, age and sex*age

Model 5 (adult *Peromyscus* spp. subset): sex and sexual activity (accounting for season and year)

Results

Wild small mammal trapping and tick collection

A total of 2159 wild small rodents were captured and examined (Table VI). We captured rodent species of eleven different genera, the most common species being *P. leucopus*, followed by *P. maniculatus* and *Blarina brevicauda*. *P. leucopus* were trapped from 61 sites, *P. maniculatus* from 47 sites, *B. brevicauda* from 45 sites and *T. striatus* from 44 sites. Seasonal variations in the estimated densities of hosts *Peromyscus* spp. (per night and per km²) are shown in figure 4.

A total of 890 ticks of 4 species were collected from the small mammals captured. Species collected, in order of abundance, were *I. scapularis* (n=855), *I. marxi* (n=20), *I. angustus* (n=10), and *I. muris* (n=5). *I. scapularis* was the most numerous species and collections consisted of 681 larvae, 173 nymphs and 1 adult collected from rodents. *I. scapularis* were found on 43 different sites by flagging and/or examination of trapped mammals. Immature *I. scapularis* were found on 293 hosts at 32 sites (224 hosts carried larvae, 103 hosts carried nymphs and 34 hosts carried both larvae and nymphs).

B. burgdorferi infection in wild small mammals and their tick ectoparasites

A total of 7/887 rodents were seropositive for *B. burgdorferi* when considering only the first visit at the 71 different locations. Of these, 2/527 *P. leucopus* and 5/307 *P. maniculatus* were seropositive. For all visits in 2007 and 2008 (including targeted revisits in 2008 where *I. scapularis* or *B. burgdorferi* were more likely to be detected), of the 1,169 plasma samples tested, 17 were positive for antibodies to *B.*

burgdorferi (see Table VII). From the 9 *P. leucopus* found seropositive, 6 individuals carried ticks (25 larvae and 4 nymphs), but all ticks were PCR negative for *B. burgdorferi*. From the 6 *P. maniculatus* found seropositive, 3 of them carried ticks (14 larvae and 5 nymphs) and 11 larvae and one nymph were positive by PCR. Six (6) ticks (3 larvae and 3 nymphs) were collected from the one *T. striatus* found seropositive and one nymph was positive. Finally, on the one *T. hudsonicus* found seropositive, there were 73 ticks collected (65 larvae and 8 nymphs), but none were positive.

Of the 855 *I. scapularis* collected on rodents, 848 (675 larvae, 172 nymphs and 1 adult) were tested by PCR for the presence of *B. burgdorferi* and of these, 39 ticks were positive (22 larvae and 17 nymphs). The positive nymphs were collected from 11 rodents at 6 sites and the positive larvae were collected from 4 rodents at 3 sites. In total, positive nymphs and larvae were collected from 12 rodents (8 of which were seronegative, 2 of which were seropositive and 2 of which were undetermined) at 6 different sites.

Host associations of I. scapularis

The distribution of immature *I. scapularis* collected from trapped mammals is summarized in Table VII. Of the 2,159 rodents captured, 13.6% of these captures (293 individual rodents) carried immature *I. scapularis*. These ticks infested rodent species of 10 genera out of 11 different genera captured. Of all animals examined, *P. leucopus* were the most numerous (n=843, comprising 39.1% of all captures and from 61 sites).

The 1,298 individual *P. leucopus* and *P. maniculatus* represented 60.1% of all the captures. Those two species carried 78.1% of all the larvae and 57.2% of all the nymphs collected from captured animals. In comparison, the 207 *T. striatus* and *T. hudsonicus*, represented 9.6% of the captures. These two

species carried 14.0% of all the larvae and 37.0% of all the nymphs collected from captured animals. The highest level of immature *I. scapularis* infestation was 73 ticks (65 larvae and 8 nymphs) on one red squirrel (*T. hudsonicus*).

The seasonal trend in the mean infestation of feeding immature *I. scapularis* collected on rodents is presented in Figure 5. In most instances, a bimodal pattern of larval host-seeking activity was observed, while a unimodal pattern of nymphal activity was present with peak abundance in June that then tapered off slowly over the summer months over all sites.

Analysis of the intensity of infestation on I. scapularis-positive sites

From all the explanatory variables tested in our models of larval or nymphal counts (number of larvae or nymphs per rodent), season, year of sampling, age and sex of hosts were statistically significant (details of statistical model results are presented in Table VIII).

i) Model 1: Differences amongst host species in the number of ticks carried

The numbers of larvae carried by hosts varied significantly with season and host species. Larvae were found more often in autumn (September-October) than in spring (May-June) and also more often in summer (July-August) than in spring. For the host species effect, we compared all host species against *P. leucopus*, since those mice were a predominant host for immature *I. scapularis*. Accounting for season and year, *P. leucopus* carried significantly higher numbers of larvae compared to all other host species, except *P. maniculatus*. Statistical models investigating nymphal infestations could not be constructed due to the infrequent infestation of many host species with nymphs.

ii) Model 2: Differences between Peromyscus spp. in the number of ticks carried

Larvae were more abundant on *Peromyscus* spp. in autumn than in spring, and adult mice carried more nymphs than did subadults or juveniles.

iii) Model 3: Differences amongst P. leucopus classes in the number of ticks carried

There were no differences amongst *P. leucopus* classes in the numbers of larvae carried. Adult *P. leucopus* carried more nymphs than subadults or juveniles and subadults carried more nymphs than juveniles.

iv) Model 4: Differences amongst P. maniculatus classes in the number of ticks carried

Larval infestations of *P. maniculatus* in 2008 first visits were significantly higher than those during 2007. There were, however, no differences amongst *P. maniculatus* classes in the numbers of larvae carried. Adult *P. maniculatus* carried more nymphs than did subadults and subadults carried more nymphs than did juveniles.

v) Model 5: Differences amongst adult Peromyscus spp. in the number of ticks carried

Adult male *Peromyscus* spp. rodents carried more nymphs than females, while adult male *P. leucopus* were infested with more larvae and nymphs than adult female *P. leucopus*.

Discussion

During these studies, we were able to identify locations of establishing populations of *I. scapularis* ticks, and emerging areas for Lyme disease risk in southwestern Quebec. We detected at least one *I. scapularis* tick at 43 sites and 4 sites fulfilled the criteria for an endemic area according to Health Canada (1991). However, *B. burgdorferi* infection prevalence in hosts or ticks was low at these sites. It should be noted that ticks recently attached to rodents are less likely to be detectably infected than fully engorged ticks while all attached ticks in our study were tested. Therefore, the prevalence of infection in attached ticks detected in our study is likely an underestimate of the true prevalence of infection in ticks that have engorged on small mammal hosts in the region.

The seasonality of *I. scapularis* ticks in southwestern Quebec at the 43 *I. scapularis*-positive sites, and the seasonal patterns of larval and nymphal activities was similar to patterns reported from previous studies in northeastern USA (Kurtenbach et al. 2006): larvae being more abundant on hosts in late summer and nymphs being more abundant on hosts in spring. However, a bimodal pattern of larval host-seeking activity was observed (Figure 4), while a unimodal pattern of nymphal activity was present with peak abundance in June that then tapered off slowly over the summer months over all sites. This is consistent with studies in northeastern USA (Ginsberg 1993) and Canada (Lindsay et al. 1999b).

Since larvae do not hatch from eggs until July, the high number of host-seeking larvae and nymphs resuming or commencing activity synchronously in spring may, in part, reflect a cohort of unfed larvae ticks that overwintered. Local climatic conditions may drive larvae to overwinter: abrupt autumnal cooling at higher latitudes curtailing larval activity in autumn (Daniels et al. 1996;

Gatewood et al. 2009). Such conditions may be more favourable to transmission of *B. burgdorferi* strains (e.g. RST-3 types (Hanincova et al. 2008)) and other tick-borne bacteria that have short-lived infections in their hosts (Kurtenbach et al. 2006, Ogden et al. 2007). Furthermore, these conditions may promote co-feeding transmission amongst infected nymphs and larvae (Ogden et al. 2007). Infected *I. scapularis* nymphs, rather than persistently infected vertebrate hosts, could be hypothesized as the overwintering reservoir for *B. burgdorferi* in this newly-endemic system (Lindsay et al. 1997). Furthermore, environmental conditions influencing the size of overwintering larval and nymphal populations could be critical to the dynamics and maintenance of *B. burgdorferi* cycle (Ogden et al. 2007).

However, based on the bacterial strain found in Quebec area (Ogden et al. 2010), this relative synchronicity between host-seeking larvae and nymphs, is probably less important compared to sites in midwest USA (Gatewood et al. 2009). In fact, all but one of the sequence types (STs) that are present in Quebec had previously been found in ticks collected in northeastern USA (Ogden et al. 2010). Further studies are needed to investigate the combined effects of local tick seasonality and stochastic founder events on the diversity of *B. burgdorferi* establishing in this region of Canada.

In some analyses, more larvae were discovered at sites visited in 2008 for the first time compared to sites that were visited in 2007 for the first time. This could reflect increasing abundance of *I. scapularis* in the region as the tick populations become more firmly established, however this difference could reflect year-to-year variation due to unstudied variations in weather, host densities or other environmental factors.

In this study, we focus on small wild mammal hosts that are known hosts of ticks and *B. burgdorferi*. Further studies would be needed to investigate the role of the full host range including white-tailed

deer, skunks, raccoons, foxes, coyotes, birds etc. that were not captured by our sampling methods. Of those species captured, immature *I. scapularis* were mostly collected on *P. leucopus*, *P. maniculatus*, *T. striatus* and *T. hudsonicus* and those four host species have previously been characterised as being competent reservoirs for *B. burgdorferi* (Tsao 2009). Nearly 80% of larvae were carried by *Peromyscus* spp. and these species carried many nymphs too (57% of nymphs collected). However 37.0% of nymphs were carried by *T. striatus* or *T. hudsonicus* while these species carried only 14% of larvae. Similar results were observed when excluding one outlier *T. hudsonicus* that carried 65 larvae and 8 nymphs, *T. striatus* and *T. hudsonicus* species carried 32.4% of nymphs. The infestation values for chipmunks, squirrels or other species than mice are probably quite conservative because their estimate was probably confounded by sampling methodology: i) mice were killed and thoroughly examined in 2007 and 2008, ii) chipmunks or squirrels were killed and thoroughly examined only in 2008, iii) chipmunks and squirrels had dense and thick fur limiting the capacity to see attached ticks, and iv) other host species were less intensely examined due to anaesthesia length. Low tick abundance prevented more detailed investigation of this observation, but we speculate that partitioning of nymphs and larvae amongst diverse host species could result in a 'dilution effect' (Ostfeld 2011), so higher host diversity could be an inhibitory factor on *B. burgdorferi* establishment in this region (Ogden and Tsao, 2009). Increasing host species diversity could have an amplification effect in some circumstances due to increasing numbers of ticks in the system (Ogden and Tsao, 2009). However, if nymphs and larvae are increasingly segregated on different species with increasing diversity, dilution of transmission cycles may be more likely to occur. As an extreme example, even if all species of a theoretical host community were highly competent reservoirs, transmission cycles could not occur at all were some reservoir host species to carry only nymphs while all the other reservoir host species carried only larvae. This would be so even if tick abundance increased with increasing host species diversity.

Clearly, however, *Peromyscus* rodents are important hosts for ticks and, possibly, *B. burgdorferi* on the sites studied. Adult males of this genus were more likely to carry nymphal ticks and in fact carried 35% (300 of 854) of all host-feeding *I. scapularis* collected in the study. The occurrence and significance of this finding for the ecology of *I. scapularis* is similar for other macroparasites, and likely rooted in a combination of behaviour and physiology (Wilson et al. 2002). Lower anti-tick resistance of, or grooming by, sexually active males could be an explanatory factor, but other behavioural characteristics such as age, sex-related dispersal rates and home range sizes may have made them more likely to encounter ticks (Bown et al. 2003). Male mice often have larger home ranges and greater activity rates, potentially exposing them to greater numbers of questing ticks than females (Randolph 1975, Brunner and Ostfeld 2008). The significance of this finding is that adult male *Peromyscus* spp. and more specifically adult male *P. leucopus* may contribute more to the transmission of tick-borne pathogens in this location being more likely to encounter infective nymphs, and transmission may be focused on a small proportion of the rodent host population as occurs in transmission cycles of tick-borne zoonoses in Europe (Randolph et al. 1999; Perkins et al. 2003). Special attention should, therefore, be made to these animals when employing control methods (e.g. vaccination or tick control: Dolan et al. 2004; Tsao et al. 2004). To date some of these methods have involved trapping mice in Sherman™ live traps (Tsao et al. 2004) and, using this method, control could easily be targeted to adult male mice. However, perhaps there are more efficient methods of targeting adult mice for which further research is needed.

In conclusion, our study indicates that the seasonality of *I. scapularis* ticks in southeastern Canada is mostly consistent with studies in northeastern USA with the caveat of possibly greater synchronicity of larval and nymphal ticks in spring. The latter characteristic may have consequences for the species and strains of *I. scapularis*-borne pathogens that establish in the region. Our study also identifies the

possibility for two competing influences of tick-host associations on transmission of tick-borne pathogens. Adult males of *Peromyscus* mice carry many larval ticks but also proportionately more nymphal ticks than other mice classes possibly focusing transmission on a smaller cadre of the mice population. However squirrels and chipmunks may be 'stealing' infective nymphs from *Peromyscus* species and preventing them from contributing to transmission by virtue of the relatively small number of larvae that these species carry relatively to *Peromyscus* spp. Quebec may be in the early stages of establishing tick populations prior to the establishment of efficient *B. burgdorferi* transmission cycles which could become a high public health risk for Lyme disease (Ogden et al. 2010). Considering the public health significance of the findings, this situation may offer a unique opportunity to investigate the ecology of Lyme disease in an emerging zone.

Acknowledgements

This study was jointly funded by the Public Health Agency of Canada (PHAC), *Ministère de la santé et des services sociaux* and *Institut national de la santé publique du Québec*. We thank Stéphanie Brazeau, Yann Pelcat and Laurie St-Onge (PHAC) for preparing figures and site selection, and LSPQ (Maurice Desgens) and NML personnel for laboratory work (Katie Bernat, Tyler Cote, and Antonia Dibernardo). Finally, we gratefully acknowledge many field assistants: Steeve Fournier, André-Pierre Gagnon, Amélie Langlois and Ian St-Amour.

References

- Bown, K. J., M. Begon, M. Bennett, Z. Woldehiwet and N. H. Ogden (2003). "Seasonal dynamics of *Anaplasma phagocytophila* in a rodent-tick (*Ixodes trianguliceps*) system, United Kingdom." *Emerg Infect Dis* 9(1): 63-70.
- Brunner, J. L. and R. S. Ostfeld (2008). "Multiple causes of variable tick burdens on small-mammal hosts." *Ecology* 89(8): 2259-72.
- Burgdorfer, W., A. G. Barbour, S. F. Hayes, J. L. Benach, E. Grunwaldt and J. P. Davis (1982). "Lyme-Disease - a Tick-Borne Spirochetosis." *Science* 216(4552): 1317-1319.
- 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(7): 3164-3168.
- Daniels, T. J., R. C. Falco, K. L. Curran and D. Fish (1996). "Timing of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) oviposition and larval activity in southern New York." *J Med Entomol* 33(1): 140-147.
- Dolan, M. C., G. O. Maupin, B. S. Schneider, C. Denatale, N. Hamon, C. Cole, N. S. Zeidner, 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(6):1043-1054.
- Gatewood, A. G., K. A. Liebman, G. Vourc'h, J. Bunikis, S. A. Hamer, R. Cortinas, F. Melton, P. Cislo, U. Kitron, J. Tsao, A. G. Barbour, D. Fish and M. A. Diuk-Wasser (2009). "Climate and tick seasonality are predictors of *Borrelia burgdorferi* genotype distribution." *Appl Environ Microbiol* 75(8): 2476-2483.

- Ginsberg, H. S. (1993). "*Ixodes dammini* and *Borrelia burgdorferi*". In H.S. Ginsberg (ed.) "Ecology and environmental management of Lyme disease". Rutgers University press. New Brunswick, NJ. pp. 63-82.
- Hanincova, 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(1): 153-157.
- Health Canada 1991: Laboratory Centre for Disease Control. "*Consensus conference on Lyme disease.*" *CDWR* 17(13): 63-70.
- Hoen, A. G., G. Margos, S. J. Bent, M. A. Diuk-Wasser, A. Barbour, K. Kurtenbach and D. Fish (2009). "Phylogeography of *Borrelia burgdorferi* in the eastern United States reflects multiple independent Lyme disease emergence events." *Proc Natl Acad Sci U S A* 106(35): 15013-15018.
- Hofmeister, E. K., B. A. Ellis, G. E. Glass and J. E. Childs (1999). "Longitudinal study of infection with *Borrelia burgdorferi* in a population of *Peromyscus leucopus* at a Lyme disease-enzootic site in Maryland." *Am J Trop Med Hyg* 60(4): 598-609.
- Keesing, F., J. Brunner, S. Duerr, M. Killilea, K. Logiudice, K. Schmidt, H. Vuong and R. S. Ostfeld (2009). "Hosts as ecological traps for the vector of Lyme disease." *Proc Biol Sci* 276(1675): 3911-3919.
- Kurtenbach, K., K. Hanincova, J. I. Tsao, G. Margos, D. Fish and N. H. Ogden (2006). "Fundamental processes in the evolutionary ecology of Lyme borreliosis." *Nat Rev Microbiol* 4(9): 660-669.
- 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(4): 766-775.

- Lindsay, L. R., S. W. Mathison, I. K. Barker, S. A. McEwen, T. J. Gillespie and G. A. Surgeoner (1999a). "Microclimate and habitat in relation to *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) populations on Long Point, Ontario, Canada." *J Med Entomol* 36(3): 255-262.
- Lindsay, L.R., S. W. Mathison, I. K. Barker, S. A. McEwen and G. A. Surgeoner (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: 243-254.
- Linzey, A. V. (1989). "Response of the White-Footed Mouse (*Peromyscus leucopus*) to the Transition between Disturbed and Undisturbed Habitats." *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie* 67(2): 505-512.
- Mather, T., M. Wilson, S. Moore, J. Ribeiro, A. Spielman (1989). "Comparing the relative potential of rodents as reservoirs of the Lyme disease spirochete (*Borrelia burgdorferi*)", *Am. J. Epidemiol.* 130:143-150.
- Martell, A. M. (1983). "Demography of Southern Red-Backed Voles (*Clethrionomys gapperi*) and Deer Mice (*Peromyscus maniculatus*) after Logging in North-Central Ontario." *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie* 61(5): 958-969.
- Norman, R., R. G. Bowers, M. Begon and P. J. Hudson (1999). "Persistence of tick-borne virus in the presence of multiple host species: tick reservoirs and parasite mediated competition." *J Theor Biol* 200(1): 111-118.
- Ogden, N. H., L. Trudel, H. Artsob, I. K. Barker, G. Beauchamp, D. F. Charron, M. A. Drebot, T. D. Galloway, R. O'Handley, R. A. Thompson and L. R. Lindsay (2006). "*Ixodes scapularis* ticks collected by passive surveillance in Canada: analysis of geographic distribution and infection with Lyme borreliosis agent *Borrelia burgdorferi*." *J Med Entomol* 43(3): 600-609.

- Ogden, N. H., M. Bigras-Poulin, J. O'Callaghan C, I. K. Barker, K. Kurtenbach, L. R. Lindsay and D. F. Charron (2007). "Vector seasonality, host infection dynamics and fitness of pathogens transmitted by the tick *Ixodes scapularis*." *Parasitology* 134(Pt 2): 209-227.
- Ogden, N. H., L. St-Onge, I. K. Barker, S. Brazeau, M. Bigras-Poulin, D. F. Charron, C. M. Francis, A. Heagy, L. R. Lindsay, A. Maarouf, P. Michel, F. Milord, C. J. O'Callaghan, L. Trudel and R. A. Thompson (2008). "Risk maps for range expansion of the Lyme disease vector, *Ixodes scapularis*, in Canada now and with climate change." *Int J Health Geogr* 7: 24.
- Ogden, N. H. and J. I. Tsao (2009). "Biodiversity and Lyme disease: Dilution or amplification?" *Epidemics* 1(3): 196-206.
- 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(12): 1221-1224.
- Ogden, N. H., C. Bouchard, K. Kurtenbach, G. Margos, L. R. Lindsay, L. Trudel, S. Nguon and F. Milord (2010). "Active and passive surveillance and phylogenetic analysis of *Borrelia burgdorferi* elucidate the process of Lyme disease risk emergence in Canada." *Environmental Health Perspectives* 118(7): 909-914.
- Ostfeld, R. S. (2011). "Lyme disease : the ecology of a complex system". Oxford University Press, New York, USA.
- Perkins, S. E., I. M. Cattadori, V. Tagliapietra, A. P. Rizzoli, P. J. Hudson (2003). "Empirical evidence for key hosts in persistence of a tick-borne disease. " *Int J Parasitol.* 33(9):909-917.
- Piesman, J., T. N. Mather, J. G. Donahue, J. Levine, J. D. Campbell, S. J. Karakashian and A. Spielman (1986). "Comparative prevalence of *Babesia microti* and *Borrelia burgdorferi* in four populations of *Ixodes dammini* in eastern Massachusetts." *Acta Tropica* 43(3): 263-270.
- Randolph, S. E. (1975). "Patterns of Distribution of the Tick *Ixodes trianguliceps* Birula on its Hosts." *Journal of Animal Ecology* 44(2): 451-474.

- Randolph, S. E., D. Miklisova, J. Lysy, D. J. Rogers and M. Labuda (1999). "Incidence from coincidence: patterns of tick infestations on rodents facilitate transmission of tick-borne encephalitis virus." *Parasitology* 118 (Pt 2): 177-186.
- Spielman, A., C. M. Clifford, J. Piesman and M. D. Corwin (1979). "Human babesiosis on Nantucket Island, USA: description of the vector, *Ixodes (Ixodes) dammini*, n. sp. (Acarina: Ixodidae)." *J Med Entomol* 15(3): 218-234.
- Tessier, N., S. Noel, F. J. Lapointe (2004). "A new method to discriminate the deer mouse (*Peromyscus maniculatus*) from the white-footed mouse (*Peromyscus leucopus*) using species-specific primers in multiplex PCR." *Canadian Journal of Zoology - Revue Canadienne de Zoologie*. 82(11):1832-1835.
- Tsao, J. I., J. T. Wootton, J. Bunikis, M. G. Luna, D. Fish, A. G. Barbour (2004). "An ecological approach to preventing human infection: vaccinating wild mouse reservoirs intervenes in the Lyme disease cycle." *Proc Natl Acad Sci U S A*. 101(52):18159-18164.
- Tsao, J. I. (2009). "Reviewing molecular adaptations of Lyme borreliosis spirochetes in the context of reproductive fitness in natural transmission cycles." *Veterinary Research* 40(2):36.
- Wilson, K., O. N. Bjornstad, A. P. Dobson, S. Merler, G. Pogliayen, S. E. Randolph, A. F. Read and A. Skorpning, Eds. (2002). "Heterogeneities in macroparasite infections: patterns and processes." New York, USA.

Figures

Figure 3. Occurrence of *I. scapularis* ticks from the 71 sites visited during the active field surveillance for Lyme disease in southwestern Quebec, 2007-2008

Figure 1. Occurrence of *I. scapularis* ticks from the 71 sites visited during the active field surveillance for Lyme disease in southwestern Quebec, 2007-2008.

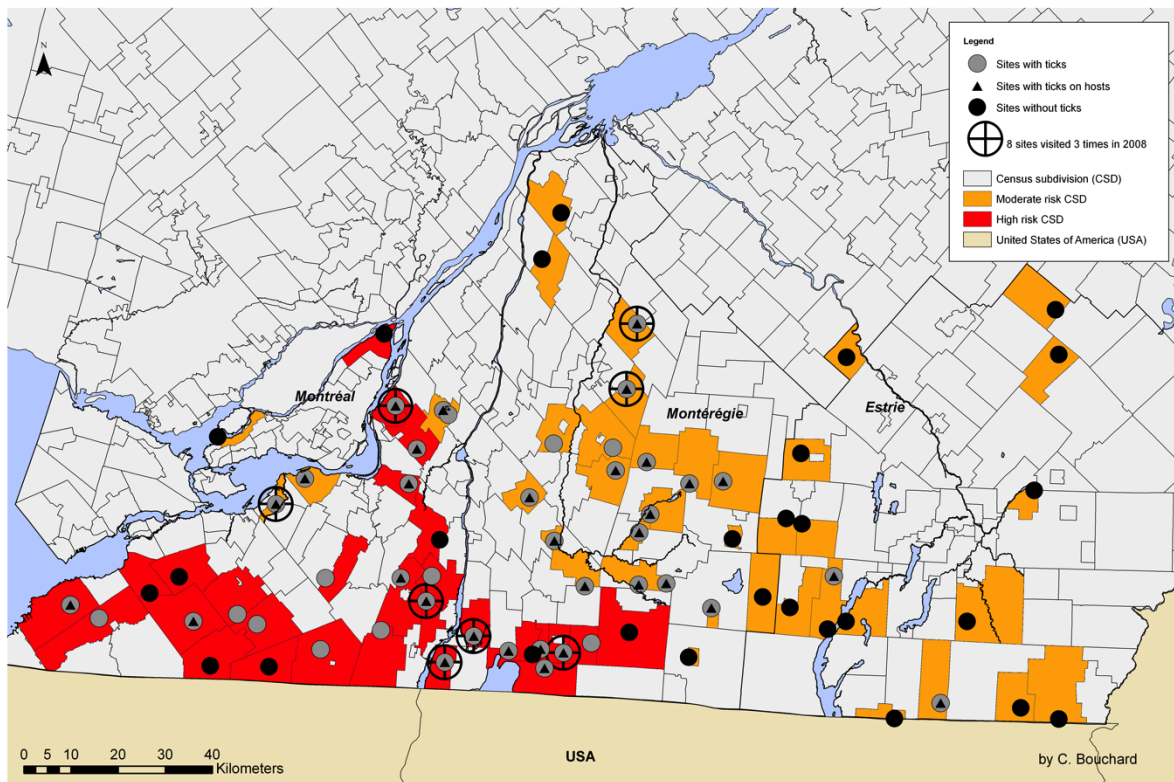
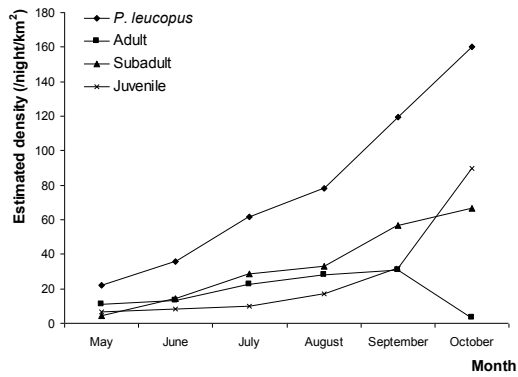


Figure 4. Estimated densities of adult, subadult and juvenile *Peromyscus* spp. by month (cumulative data from 2007-2008 first visits and 2008 revisits). Estimated densities represent the number of captured mice per night per km² at each visit

i) *Peromyscus leucopus* (n=843)



ii) *Peromyscus maniculatus* (n=455)

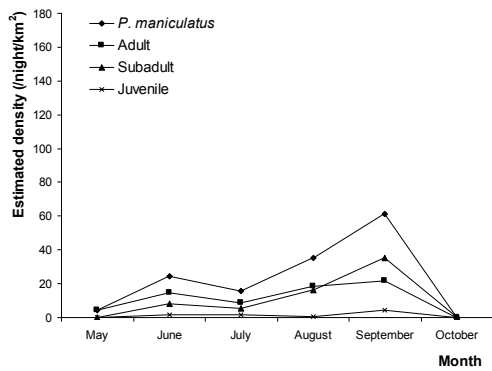
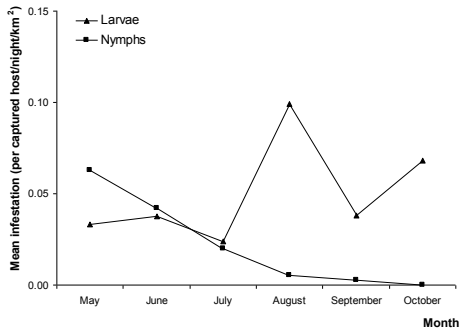
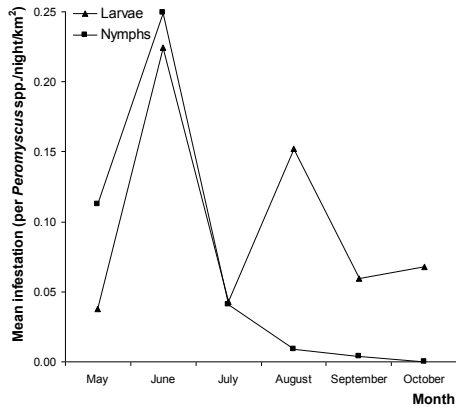


Figure 5. Seasonality in the mean infestation of captured mammals with immature *I. scapularis* (i.e. average number of ticks per captured host (per night per km² at each visit))

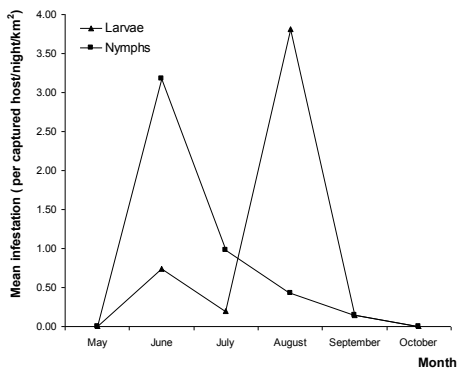
i) All species



ii) *Peromyscus* spp.



iii) *Tamias striatus* and *Tamiasciurus hudsonicus*



Tables

Table VI. Wild small mammals captured and examined for ticks in southwestern Quebec, 2007-2008

Common name	Species	2007	2008	No. captures	No. sites where captured
White-footed mouse	<i>Peromyscus leucopus</i>	498	345	843	61
Deer mouse	<i>Peromyscus maniculatus</i>	147	308	455	47
<i>Peromyscus</i> mouse	<i>Peromyscus</i> spp.	65	0	65	13
Short-tailed shrew	<i>Blarina brevicauda</i>	71	114	185	45
<i>Sorex</i> shrew	<i>Sorex</i> sp.	42	94	136	37
Red-backed Vole/Rock vole	<i>Myodes gapperi</i> / <i>Microtus</i> sp. *	115	55	170	37
Meadow/woodland jumping mouse	<i>Zapus hudsonicus</i> / <i>N. insignis</i>	27	68	95	27
Chipmunk	<i>Tamias striatus</i>	65	103	168	44
Red squirrel	<i>Tamiasciurus hudsonicus</i>	16	23	39	20
Stoat	<i>Mustela erminea</i>	0	2	2	2
Northern flying squirrel	<i>Glaucomys sabrinus</i>	1	0	1	1
	Total	1047	1112	2159	

**Microtus* sp. : n=2

Table VII. Number of seropositive rodents for *B. burgdorferi* infection and host infestation by *Ixodes scapularis* collected from wild small mammals captured in southwestern Québec, 2007-2008

Host species	No. seropositive	No. analysed	No. captured	No. larvae	No. nymphs	No. infested hosts		Mean intensity of infestation (SE)				Range of the intensity of infestation	
						Larvae	Nymphs	Larvae	Nymphs	Larvae	Nymphs	Larvae	Nymphs
<i>Peromyscus leucopus</i>	9	721	843	403	64	139	48	2.9	(3.1)	1.3	(0.7)	1-18	1-4
<i>Peromyscus maniculatus</i>	6	340	455	129	35	48	20	2.7	(2.4)	1.8	(2.3)	1-11	1-11
Unidentified <i>Peromyscus</i> spp.	0	0	65	0	0	0	0	0.0	.	0.0	.	0	0
<i>Blarina brevicauda</i>	0	0	185	18	0	7	0	2.6	(1.7)	0.0	.	1-6	0
Unidentified shrews (<i>Sorex</i> sp.)	0	0	136	21	2	6	2	3.5	(5.2)	1.0	(0.0)	1-14	1
<i>Myodes gapperi</i> / <i>Microtus</i> sp.*	0	0	170	5	0	5	0	1.0	(0.0)	0.0	.	1	0
<i>Zapus hudsonicus</i> / <i>N. insignis</i>	0	0	95	4	8	3	8	1.3	(0.6)	1.0	(0.0)	1-2	1
<i>Tamias striatus</i>	1	97	168	20	38	10	21	2.0	(1.9)	1.8	(1.1)	1-7	1-4
<i>Tamiasciurus hudsonicus</i>	1	11	39	75	26	5	4	15.0	(28.0)	6.5	(7.4)	1-65	1-16
<i>Mustela erminea</i>	0	0	2	6	0	1	0	6.0	.	0.0	.	6	0
<i>Glaucomys sabrinus</i>	0	0	1	0	0	0	0	0.0	.	0.0	.	0	0
Total	17	1169	2159	681	173	224	103	3.0	.	1.7	.	1-65	1-16

**Microtus* sp. : n=2

Host infection by *B. burgdorferi* was described as follow:

Column 2: Number of seropositive rodents.

Column 3: Number of rodents that were analysed.

Column 4: Number of rodents that were captured.

Host infestation by *I. scapularis* was described using the following parasitological indices:

Columns 5-6: Number of ticks collected on wild small mammals captured.

Column 7: Number of infested hosts with ticks.

Column 8: Mean number of ticks per tick-infested host species (mean intensity of infestation with standard error).

Column 9: Minimal and maximal number of ticks per host species (range of the intensity of infestation).

Table VIII. Statistically significant explanatory variables in mixed effects regression models in which the number of immature *I. scapularis* parasitizing captured mammals was the outcome variable

i) Differences amongst host species in the numbers of ticks carried

Outcome	Contrast	Coefficient	SE	p	
Larvae	<i>Seasonality</i>				
		Sept-Oct vs May-June	1.43	0.22	0.02
		July-Aug vs May-June	1.36	0.20	0.04
		<i>Species</i>			
		<i>P. leucopus</i> vs <i>B. brevicauda</i>	8.49	5.13	0.0004
		<i>P. leucopus</i> vs <i>Sorex</i> sp.	4.38	3.09	0.04
		<i>P. leucopus</i> vs <i>M. gapperi</i> / <i>Microtus</i> sp.	8.88	6.97	0.005
		<i>P. leucopus</i> vs <i>Z. hudsonicus</i> / <i>N. insignis</i>	15.43	9.05	<0.0001
		<i>P. leucopus</i> vs <i>T. striatus</i>	3.83	1.37	0.0002
	<i>P. leucopus</i> vs <i>T. hudsonicus</i>	0.21	0.11	0.002	

ii) Differences between *Peromyscus* spp. groupings in the numbers of ticks carried

Outcome	Contrast	Coefficient	SE	p	
Larvae	<i>Seasonality</i>				
		Sept-Oct vs May-June	1.52	0.24	0.008
Nymphs	<i>Age</i>				
		Adults vs subadults	1.70	0.30	0.005
		Adults vs juveniles	1.29	0.12	0.006

iii) Differences amongst *P. leucopus* classes in the numbers of ticks carried

Outcome	Contrast	Coefficient	SE	p	
Nymphs	<i>Seasonality</i>				
		May-June vs Sept-Oct	2.02	0.53	0.007
		July-Aug vs Sept-Oct	1.77	0.41	0.01
		<i>Age</i>			
		Adults vs subadults	1.26	0.13	0.03
		Adults vs juveniles	2.01	0.35	<0.0001
	Subadults vs juveniles	1.59	0.35	0.03	

iv) Differences amongst *P. maniculatus* classes in the numbers of ticks carried

Outcome	Contrast	Coefficient	SE	p
Larvae	<i>Year</i>			<0.0001
	2008 (1 st visit) vs 2007 (1 st visit)	1.76	0.39	0.01
Nymphs	<i>Age</i>			0.002
	Adults vs subadults	1.68	0.26	0.0007
	Subadults vs juveniles	0.66	0.12	0.03

v) Differences amongst adult *Peromyscus spp.* in the number of ticks carried

Outcome	Contrast	Coefficient	SE	p
Larvae	<i>Sex (P. leucopus)</i>			<0.0001
	Males vs females	2.72	0.64	<0.0001
Nymphs	<i>Sex (Peromyscus spp.)</i>			0.02
	Males vs females	2.49	0.96	0.02
	<i>Sex (P. leucopus)</i>			0.0025
	Males vs females	5.28	2.91	0.0025

Article 2: Harvested white-tailed deer as sentinel hosts for early establishing *Ixodes scapularis* populations and risk from vector-borne zoonoses in southeastern Canada⁸

Bouchard, C.¹, Leighton, P.¹, Beauchamp, G.¹, Nguon, S.², Trudel, L.³, Milord, F.², Lindsay, L.R.⁴, Bélanger, D.¹, Ogden, N.H.^{1,5}

¹ Groupe de recherche en épidémiologie des zoonoses et santé publique, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada

² Direction des risques biologiques et de la santé au travail, Institut national de santé publique du Québec, Montréal, Québec, Canada

³ Laboratoire de santé publique du Québec, Institut national de santé publique du Québec, Sainte-Anne-de-Bellevue, Québec, Canada

⁴ Zoonotic Diseases and Special Pathogens, Public Health Agency of Canada, National Microbiology Laboratory, Winnipeg, Manitoba, Canada

⁵ Zoonoses Division, Centre for Food-borne, Environmental and Zoonotic Infectious Diseases, Public Health Agency of Canada, Ottawa, Ontario, Canada

⁸ Article publié dans *Journal of Medical Entomology* (2013a) vol.50(2) pp.384-393.

Abstract

Due to recent establishment of the tick *Ixodes scapularis* Say in southeastern Canada, tick-borne zoonoses (Lyme disease, human granulocytotropic anaplasmosis and human babesiosis) are of growing concern for public health. Using white-tailed deer culled in southwestern Quebec during 2007-2008, we investigated whether hunter-killed deer could act as sentinels for early establishing *I. scapularis* tick populations and for tick-borne disease risk. Accounting for environmental characteristics of the site of culling, and demographic variables of culled deer (i.e. age and sex) we investigated whether tick infestation levels of deer could identify locations of known tick populations detected in active surveillance, and/or presumed tick populations detected by passive surveillance. We also used spatial cluster analyses to identify spatial patterns of tick infestation of deer and occurrence of tick-borne zoonoses infection in ticks collected from the deer. Adult *I. scapularis* ticks were found on 15% of the 583 deer examined. Adult male deer had the greatest number of adult *I. scapularis* (nearly 90% of the ticks collected). Overall, 3%, 15% and 0% of the ticks collected were PCR-positive for *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti*, respectively. Our statistical analyses suggest that sex and age of deer, temperature, precipitation and an index of tick dispersion by migratory birds were significantly associated with *I. scapularis* infestation levels. Cluster analysis identified significant clusters of deer carrying ticks PCR-positive for *A. phagocytophilum*, and for deer carrying 2 or more *I. scapularis*. Our study suggests that hunter-killed deer may be effective as sentinels for emerging areas of tick-borne anaplasmosis. They may have limited use as sentinels for early emerging *I. scapularis* tick populations and emerging Lyme disease risk.

Keywords: *Ixodes scapularis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi*, white-tailed deer, environmental factors, public health

Introduction

Ixodes scapularis Say⁹ is the vector of a number of tick-borne zoonoses including *Borrelia burgdorferi sensu stricto* (*Borrelia burgdorferi* Johnson, Schmidt, Hyde, Steigerwaldt & Brenner), *Anaplasma phagocytophilum* Dumler, Barbet, Bekker, Dasch, Palmer, Rikihisa & Rurangirwa and *Babesia microti* Franca which cause Lyme disease, human granulocytotropic anaplasmosis (HGA) and human babesiosis, respectively (Thompson et al. 2001). *I. scapularis* ticks are expanding their geographic range northwards into southeastern and south central Canada (Ogden et al. 2009, Ogden et al. 2010, Bouchard et al. 2011, Leighton et al. 2012) and the diseases transmitted by *I. scapularis* represent a dynamic and emerging public health challenge in Canada (Ogden et al. 2005). *I. scapularis* is a host generalist parasitizing several species such as rodents, birds, medium and large sized mammals and reptiles (Tsao 2009).

However, the positive correlation between *I. scapularis* abundance and white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) density is well documented in eastern North America (Wilson et al. 1988, Wilson et al. 1990, Magnarelli et al. 1993, Magnarelli et al. 1995, Ginsberg and Zhioua 1999, Rand et al. 2003). This is to be expected as white-tailed deer are the principal hosts for adult *I. scapularis* ticks (Piesman and Spielman 1979, Wilson et al. 1990). Since deer are essential to stable *I. scapularis* populations, they could give an accurate estimate of tick population distribution (Keefe et al. 2009). In addition, hunter-harvested deer may be very useful sentinels for tick and tick-borne zoonoses surveillance programs because of their availability and the fact that they provide tick samples from privately owned areas (Cortinas 2007).

⁹ Utilisation de la nomenclature avec les auteurs scientifiques.

In addition, white-tailed deer are considered reservoirs of *A. phagocytophilum* (Massung et al. 2005). However, they are thought reservoir incompetent (and zooprophyllactic by clearing infection from feeding ticks) for *B. burgdorferi* (Loken et al. 1985, Telford et al. 1988, Lacombe et al. 1993) and may also be refractory to infection with *B. microti* (Piesman et al. 1979).

In southeastern and south central Canada new *I. scapularis* populations and foci of tick-borne zoonoses are emerging at present (Ogden et al. 2010, Bouchard et al. 2011, Leighton et al. 2012) as they are in other parts of North America (Hamer et al. 2010) likely driven in part by abiotic factors (Ogden et al. 2010, Estrada-Peña et al. 2001, Randolph, 2004) and there is a need to develop methods of surveillance to identify where these areas of risk to public health are emerging (Koffi et al. 2012). Such methods should aim to be flexible to detect other tick species (e.g. *Amblyomma americanum*) that may also emerge in the future.

In this study, we evaluated the use of harvested white-tailed deer as sentinel hosts for adult ticks as an early indicator of newly establishing populations of ticks and tick-borne zoonoses, that may be useful for surveillance purposes, in a region in southwestern Quebec where considerable field studies and surveillance activity have already taken place to act as a “gold standard” for the existence of tick populations (Ogden et al. 2010). We investigated deer demography (age and sex) as well as environmental (habitat and climate) factors as determinants of tick infestation levels (tick count per deer; refer hereafter by tick infestation levels). Adjusting for relevant significant factors we then assessed to what extent tick infestation levels of hunter-killed deer were influenced by known spatial distributions of tick populations obtained from data of active and passive surveillance conducted in southwestern Quebec in 2007-2008. We then investigated to what extent detection of infection in

deer-carried ticks could identify locations where transmission cycles of tick-borne zoonoses are becoming established.

Materials and Methods

Study site

The study was carried out at 5 deer registration stations (“check stations”) of the provincial natural resources ministry (*Ministère des Ressources naturelles et de la Faune du Québec*: MRNF) located in two different regions (Montérégie and Estrie) of southwestern Quebec (Figure 6). At present, hunters are required to present their hunted deer at one of these stations shortly after they have been shot. At the stations hunters are asked to identify the geographic location where each deer was killed using GIS mapping system with a 1 km spatial resolution.

Deer examination and tick collection

Ticks were collected from hunter-harvested white-tailed deer registered at the check stations during October and November hunting weekends of 2007 and 2008. All deer were examined providing the hunter gave his or her permission. A team of two researchers examined each carcass for ticks for a period of approximately 5 minutes. Ticks were collected from one side of the deer (the side facing upwards) from the base of the head to the top of the shoulder as adult ticks are typically concentrated on the head, neck and front of white-tailed deer (Watson and Anderson 1976, Lindsay et al. 1999). This short-duration method of examination of the deer was employed on the recommendation of MRNF staff: detailed long-duration examinations of deer were considered likely to seriously impact participation of hunters in this study and the deer registration scheme. All ticks

were removed with forceps and transferred to labelled vials containing 70% ethanol, dispatched to the *Laboratoire de santé publique du Québec* (LSPQ), Sainte-Anne-de-Bellevue, for species identification and thereafter to the National Microbiology Laboratory (NML), Winnipeg for testing for *B. burgdorferi*, *A. phagocytophilum* and *B. microti* infections. In addition to collecting ticks, information on age (based on tooth wear and replacement: MRNF protocols), sex, delay between kill time and examination, month and year of sampling were recorded for each examined deer.

Diagnostic tests for tick-associated pathogens

DNA was extracted from ticks removed from deer and tested for the presence of pathogens using Polymerase Chain Reaction (PCR) as previously described (Ogden et al. 2008). Briefly, DNA was obtained using Qiagen® DNeasy® 96 Tissue kits (QIAGEN Inc., Mississauga, ON, Canada) optimized for recovery of low-copy number DNA from ticks, and extraction efficiency was assessed using primers specific for *Ixodes* species 5.8S rRNA - 28S rRNA intergenic spacer (Ogden et al. 2006b). All DNA extracts were screened for *A. phagocytophilum* and *B. burgdorferi* using a multiplex real-time PCR targeting the *msp2* and 23S rRNA genes, respectively (Courtney et al. 2004). Samples that were positive for *B. burgdorferi* on the initial screening assay were confirmed using primers and a probe targeting the *OspA* gene (Ogden et al. 2006b). Samples that were initially positive on PCR for *A. phagocytophilum* using the *msp2* targets were confirmed using primers (Ap16Sf- gctgctttaataactgccaga; Ap16Sr- tcagtaccggaaccagatagc) and probes (Ap 16S FAM-BBQ; ccactgggttcctcctaataatctacga) targeting the 16S gene. The primers and probes used for screening samples for evidence of *B. microti* were the same as those described by Nakajima et al. (2009): BmCCT₁f (caagttggaggcaattcatagc), BmCCT₁r (cacagcttcccaacaagagtc) and BMCCT₁ probe FAM-BBQ (acgagtcctcctgttgctttggcc). Cycling conditions for all PCR reactions were similar to those

described in Ogden et al. (2008) and after amplification and real-time data acquisition, analysis was performed using Sequence Detection System software for the 7500 or 7900HT sequence detector (Applied Biosystems, Carlsbad CA, USA).

Environmental determinants

Abiotic (climatic) and biotic (habitat) environmental variables were explored as factors determining tick numbers as these determine where ticks can and cannot survive and occur. Even adventitious ticks dispersed by hosts from remote tick populations must have a suitable environment to survive the moult and to quest again (Ogden et al. 2006a). In accounting for environmental variables we aimed to control for “false negative” deer that may have spent time in habitats that are unsuitable for ticks. However as previous studies have indicated (e.g. Ogden et al. 2010), environmental variables are themselves predictors of the occurrence of tick populations so throughout we were careful to explore model fit with and without environmental variables.

Climatic conditions

Effects of temperature and precipitation on deer infestation levels were investigated. Temperature and precipitation data were obtained from Environment Canada for all southwestern Quebec meteorological stations during 2003-2008. Temperatures above 0°C were summed for each day of the year to obtain annual accumulated degree days > 0°C (DD> 0°C: considered a useful index of temperature suitability for *I. scapularis*: Ogden et al. 2005) at each climate station in southern Quebec and an interpolated surface of DD> 0°C was obtained from these data using inverse distance weighting (IDW) as previously described (Leighton et al. 2012). From the interpolated surfaces, we extracted a value of mean annual DD> 0°C for each location where deer were harvested. Total annual rainfall (mm) for each location where deer were harvested was obtained using the same method

(Leighton et al. 2012). Temperature and rainfall measures from 2003-2008 were averaged for each deer culling location (http://climate.weatheroffice.gc.ca/prods_servs/index_e.html).

Habitat type

We characterized the habitat associated with each deer culling location by creating a buffer with a 1 km radius (equivalent to an area of 3.14 km²) around the site where each harvested deer was culled. This buffer size corresponds to the reported home-range size of white-tailed deer (Nelson and Mech 1981; Nelson and Mech 1984; Lesage et al. 2000) and represents approximately 10 days of deer movement which is within the maximal attachment period of adult *I. scapularis* ticks on deer (Katavolos et al. 1998). We obtained the following habitat variables from the *Système d'information écoforestière* (SIEF) of the MRNF: proportion of each land cover category (e.g. agricultural or forest cover: deciduous, mixed, coniferous); average tree population age, height and density, and average soil drainage. These data were obtained from the 3rd or 4th inventory of SIEF at a scale of 1:20,000 (<http://www.mrnf.gouv.qc.ca/forets/connaissances/connaissances-inventaire-cartes-sief.jsp>).

Data on I. scapularis tick and tick population occurrence

We investigated three hypotheses to test whether known (or likely) locations of established *I. scapularis* tick populations explained observed variations in tick infestation levels of the deer, or whether the deer infestations could be explained simply by contact with adventitious ticks:

i) Tick infestations are higher for deer contacting known tick populations identified in active surveillance

We investigated locations of known tick populations based on data of active surveillance conducted in southwestern Quebec in 2007-2008, as explanatory variables of tick infestation levels of the deer.

We used an ordinal "index of certainty for *I. scapularis* population occurrence" that was calculated for

each of 71 field study sites as described in Ogden et al. (2010). The “index of certainty” was calculated for each site to give a value to the level of confidence that ticks found at a site came from a reproducing population, rather than being just bird-dispersed ‘adventitious’ ticks (Ogden et al. 2006b, Ogden et al. 2008). The “index of certainty” was calculated as follows: for each tick instar (larva, nymph and adult) found, 1 point was scored if one tick of that instar was found, 2 points if 2 to 9 ticks were found, and 3 points if 10 or more ticks were found. Thus the index had a minimum value of 0 (no *I. scapularis* found at the site) and a maximum of 9 (when 10 or more ticks of each of the three instars were found at the site). All questing ticks found in the environment, and feeding ticks found on rodents were included in the calculation. Only data from deer culled within each census subdivision of the sites investigated in 2007-2008 were included in this analysis.

ii) Tick infestations are higher for deer contacting presumed tick populations determined from passive tick surveillance

We investigated whether tick infestation levels of the deer were explained by presumed tick populations identified using enhanced analysis of passive tick surveillance data conducted in southwestern Quebec in 2007-2008, as described in Koffi et al. (2012). Briefly, in this field-validated method, presumed locations of tick populations are identified by a “tick index”, at the scale of census subdivision (CSD), by analysis of the numbers of ticks submitted in one year by participating veterinary and medical clinics, accounting for the density of the human population submitting ticks, and certain environmental factors that favour tick population establishment. While this variable is less precise than active field surveillance for ticks (in terms of the geographic location of tick populations and our certainty of their presence or absence) it has the advantage of having a wider geographic scope allowing all of the data from deer to be used in the analysis.

iii) Tick infestations are explained by the pattern of ticks dispersed by hosts from other tick populations

An alternative hypothesis for tick infestation levels of deer is that the deer acquire adventitious ticks dispersed away from resident tick populations in Canada or northern USA by hosts such as migratory birds. In this case deer may be less useful as sentinels for the occurrence of resident tick populations. To explore this we investigated an index of tick immigration for bird-borne nymphal ticks as developed in Ogden et al. (2008) as an explanatory variable of tick infestation levels. The adventitious tick index represented the total number of US counties endemic for *I. scapularis* within a radius of 425 km (the maximum estimated transport distance of nymphs by migrating birds, assuming the birds migrate a mean 80 km northwards per day) of the CSD in which the deer was shot. We also estimated a distance-weighted index of immigration of ticks on terrestrial hosts into any CSD by interpolating the tick index (see ii above) from neighbouring CSDs (Leighton et al. 2012) and used this value as an explanatory variable.

Statistical analyses of tick infestation levels of deer

All statistical analyses were carried out using R software v.2.13.2 (R Development Core Team, 2008). Given a high level of overdispersion of the tick count data from harvested deer, we explored four model types: generalized linear models (GLM) with a Poisson distribution, GLMs with a negative binomial distribution and zero-inflated Poisson and zero-inflated negative binomial models. The GLMs with a negative binomial distribution had the best fit according to Akaike's Information Criterion (AIC) (Anderson and Burnham 2002) and only results from these are discussed.

Three models were created in order to test the three different hypotheses: i) Model 1 in which the “index of certainty for *I. scapularis* population” was explored as an explanatory variable of tick infestation levels of selected deer (that were located within studied active surveillance census subdivisions; Bouchard et al. 2011); ii) Model 2 in which the “tick index” for each CSD in southwestern Quebec was explored as an explanatory variable of tick infestation levels of all deer; and iii) Model 3 in which the indices of tick dispersion by bird and terrestrial hosts were explored as explanatory variables of tick infestation levels of all deer.

In each model, we accounted and adjusted for sex and age of harvested deer (e.g. age and sex and interactions between these), the delay between kill time and examination, month and year of sampling and environmental factors which could account for geographic and temporal variations in tick infestations. A variable representing the check station was included as a fixed effect in our model, to account for the lack of independence between the deer examined at the same station. All continuous variables were standardized to allow meaningful comparison of coefficients (Quinn and Keough 2002).

All the factors were tested individually with a cut-off of $p < 0.2$ for inclusion in a multivariable model. The most parsimonious multivariable model was then selected via a process of forward and backward substitution and elimination. The level of significance in the final model was set at $p < 0.05$. To account for possible multicollinearity between covariates, we set a threshold of 3 for variance inflation factors as suggested by Zuur et al. (2009). We also explored the possibility of spatial autocorrelation violating the assumption of independence of observations (Legendre and Legendre 1983) by post-hoc analyses of residuals by variograms plotted as a function of geographic distance (Dormann et al. 2007).

Spatial cluster analysis

Spatial analysis was performed with SaTScan™ (SaTScan™ v.9.1.1) using a purely spatial Bernoulli (case-control) model to identify spatial clusters of *I. scapularis* and vector-borne zoonoses. In the first model, deer infested with ≥ 2 *I. scapularis* ticks were set as cases and deer carrying < 2 ticks were set as controls. The cut-off value of 2 ticks was selected in order to better discriminate adventitious ticks from endemic ticks based on AUC in ROC curve analysis. A receiver operating characteristics (ROC) graph plots the sensitivity of a test against the false positivity rate computed at a number of different cutpoints to select the optimum cutpoint to discriminate, in our case, between adventitious ticks versus established ticks collected using the area under the ROC curve (AUC: Dohoo et al. 2003). In the second and third models, deer carrying ticks that tested positive for vector-borne pathogens (*B. burgdorferi* or *A. phagocytophilum*) were set as cases and deer infested only with ticks that were negative (for *B. burgdorferi* or *A. phagocytophilum*) were set as controls. We chose an elliptic version of the spatial scan statistic to allow a scanning window of variable shape (eccentricity), angle and size. The distribution and statistical significance of the clusters were explored by 999 Monte Carlo replications of the data sets to ensure adequate power for defining clusters. The maximum cluster size included up to 50% of the total cases being analyzed, and the level of significance was $P < 0.05$. The likelihood function was maximized over all window locations, shapes, angles and sizes. We considered only the most likely clusters in these analyses.

Results

A total of 243 adult *I. scapularis* ticks were collected from 88 (15.1%) of the 583 white-tailed deer examined with infestations ranging from 1 to 21 per deer (the mean number of *I. scapularis* ticks per

tick-infested deer was 2.8 ± 0.4 ticks and the median was 2.0 ticks) (Figure 6; Table IX). The proportion of tick-infested deer was 18.1% in 2007 and 14.1% in 2008 (Table IX). Twelve immature *Dermacentor albipictus* ticks were also identified during the study but are not included in our analyses. The mean duration of the period between culling and examination was 25.5 hours (range 0.55 to 212.12).

Adult male deer had the greatest number of adult *I. scapularis*, hosting 88.1% of the ticks that were collected (n=214). Males comprised 54.7% of the deer examined while 19.3% were identified as juveniles. The proportion of juveniles for each sex was comparable: 20.8% for females and 18.6% for males.

Of the 243 adult *I. scapularis* that were collected, 3.3% were infected with *B. burgdorferi*, 14.8% were infected with *A. phagocytophilum* (Table X) and none were infected with *B. microti*.

Statistical analyses: Models of tick infestation levels of deer

Details of statistical model results are presented in Table XI and XII. Male deer were more heavily infested than female deer in all our models. Juvenile deer were less heavily infested than adult deer, carrying nearly half as many ticks as adults in models 2 and 3. Delay of examination (e.g. the time period from when the deer were reported as killed and examined) was negatively associated with the number of ticks collected on deer in models 2 and 3.

I. scapularis infestations of deer was significantly positively associated with temperature and precipitation in Model 1, and negatively associated with precipitation in Model 2 but no other significant associations between environmental variables and tick infestations were detected.

In Models 1 and 2 the known location of tick populations, and the presumed locations of tick populations identified from passive surveillance data, were not significantly associated with tick infestations in deer, whether or not environmental variables were included. In Model 3, the index of tick dispersion by migratory birds was significantly associated with higher tick infestations of the deer when accounting for deer age, sex and the delay of examination. The index for tick dispersal by terrestrial hosts was not significantly associated with deer infestation levels.

In the three final models, visual analyses of residual variograms with confidence interval of 95% revealed no residual spatial autocorrelation. Also multicollinearity was not judged serious, since all covariates were under 3 for variance inflation factors.

Spatial cluster analysis

A significant cluster of deer carrying ≥ 2 adult *I. scapularis* was detected at the western edge of the study area, although this area did not correspond with the known distribution of tick populations from active field surveillance (Table XIII, Figure 7). No cluster of deer carrying *B. burgdorferi*-positive ticks was found but a significant cluster of deer carrying ticks testing positive for *A. phagocytophilum* was detected in the central part of the study region (Table XIII, Figure 8). Within the cluster 10 out of 13 (76.9%) ticks (collected from 5 deer) were positive for *A. phagocytophilum*, while outside the cluster 26 out of 230 (11.3%) ticks were positive. Similarly from the deer infested within the cluster (Figure 8), 80.0% of the deer carried *A. phagocytophilum* positive ticks (4 deer out of 5 with at least one positive tick), whereas 13.3% of the deer carried positive ticks outside the cluster (11 out of 83 deer with at least one positive tick).

Discussion

Our study provides evidence of an emerging focus of *A. phagocytophilum* within southwestern Quebec, which suggests that deer may be effective as sentinels for emerging areas of risk of *A. phagocytophilum* infection. In contrast, from our analyses, deer may have limited use as sentinel for identifying the locations of *I. scapularis* resident populations at an early stage of their emergence, and of emerging areas of risk of *B. burgdorferi* infection.

Our study aimed to investigate the potential for hunter-harvested deer to act as sentinels for identifying the geographic locations of newly-established *I. scapularis* populations as an early warning system for emerging risk of Lyme disease and other tick-borne zoonoses. Due to the active efforts to examine deer and identify the locations of culling, the deer registration system of MRNF in Quebec provides a potentially very useful system for surveillance for vectors and pathogens of public and animal health significance providing the deer act as effective sentinels in terms of sensitivity and specificity. Our study suggests that deer are indeed carrying adult *I. scapularis* ticks in a region where this tick is known to becoming resident (Ogden et al. 2010, Bouchard et al. 2011). Therefore it could be expected that hunter-harvested deer could act as effective sentinels for emerging tick populations. However, our study suggests that this is not the case. While accounting for expected demographic relationships such as adults and males carrying more ticks (Kitron et al. 1992), and having explored possible environmental confounders, tick infestation levels of deer in this study were not significantly associated with the known or presumed locations of tick populations identified in active and passive surveillance. In contrast, there was a significant association of infestation of deer and the index of dispersion of ticks by migratory birds. This suggests that like dogs and other pets (Ogden et al. 2006b, Ogden et al. 2010) deer may be very efficient at collecting and acquiring ticks

dispersed outside of reproducing tick populations by migratory bird hosts. Because of this, analysis of ticks collected from deer may be a sensitive but a spatially non-specific method of surveillance for *I. scapularis* populations in the early stage of emergence when tick densities are low. This was in contrast to our expectation that the limited duration and anatomical focus of the examination of the deer would reduce the sensitivity of detection of ticks, and that specificity would not be an issue. An interesting finding, however, was that a spatial cluster of infested deer could be found at our fine-study scale and no similar pattern was found from active and passive tick surveillance data. This could mean that hunter killed deer may provide useful surveillance signals for identification of locations supporting high densities of ticks (and thus of high Lyme disease risk) as would be expected from the typically high infestations of deer in long-established *I. scapularis* populations (Lindsay et al. 1999).

The prevalence of infection for *B. burgdorferi* in ticks collected from white-tailed deer (3%) was lower than that in adult tick collected in passive and active surveillance in southwestern Quebec during 2007-2008 (13% and 8% respectively; Ogden et al. 2010). This is consistent with a zooprophylactic effect of deer in eliminating *B. burgdorferi* infection in the ticks that feed on them (Telford et al. 1988). This suggests that even where deer act as sentinels for emerging tick populations, they are likely poor sentinels for establishment of *B. burgdorferi* and the emergence of Lyme disease risk.

In contrast, through cluster analysis of PCR results from the ticks collected on the deer we found new evidence of an *A. phagocytophilum* focus within southwestern Quebec. This suggests that deer may act as good sentinels for identifying locations of emergence of this zoonotic agent. *A. phagocytophilum* infection prevalence in the ticks reached more than 75% within the positive cluster detected. This is in contrast to data from passive surveillance data conducted in Canada from 1990 to

2008 in which less than 2% of the ticks collected from domestic animals and/or humans tested positive for *A. phagocytophilum*. It is unclear if the *A. phagocytophilum* strains occurring in the ticks collected from white-tailed deer in our study are infectious to humans although some studies suggest that deer are capable of transmitting strains that are pathogenic in humans (Tate et al. 2005). Previous studies have suggested that a specific strain of *A. phagocytophilum* exists in a deer - *I. scapularis* enzootic cycle (Massung et al. 2002a, Massung et al. 2002b, de la Fuente et al. 2005, Massung et al. 2005) and further analyses of the strains of *A. phagocytophilum* occurring in Canada, and their significance for human health, are required. In southwestern Quebec, *A. phagocytophilum* has to date been mostly detected in adult *I. scapularis* collected on white-tailed deer in this study (Bouchard et al. 2011), which supports the hypothesis of a deer - *I. scapularis* cycle for *A. phagocytophilum*. Our findings in terms of the proportion of deer carrying positive ticks (and by crude inference the proportion infected) and the prevalence of infection in ticks taken from deer are consistent with studies in the USA (Dugan et al. 2006, Steiner et al. 2006) despite the likely conservative estimation of tick count per deer based on our sampling methods (i.e. one side examined on carcass and short period time for examination).

Conclusion

We conclude that counting ticks collected from white-tailed deer may be less useful than analysis of passive tick surveillance data as a method of surveillance for *I. scapularis* tick populations in the early stage of their emergence due to lack of spatial specificity. Testing ticks collected from deer for *B. burgdorferi* is an inefficient sentinel surveillance method for emerging Lyme disease risk because it lacks sensitivity due to reduction in *B. burgdorferi* infection prevalence in ticks feeding on deer.

Analysis of ticks collected from deer may however be an efficient, sensitive and specific sentinel surveillance method to detect emerging locations of risk of *A. phagocytophilum* infection.

Our study highlights the need for surveillance for emerging tick-borne disease risks in Canada, provides evaluation of the potential use of deer as sentinels and suggests the need for further studies to better characterize *A. phagocytophilum* transmission cycles and their possible impact for public or animal health in Canada. Further studies are also needed to investigate the use of deer infestations with *I. scapularis* as a means of surveillance to identify locations where high tick densities, and by implication high tick-borne zoonoses risk, occur.

Acknowledgements

This study was jointly funded by the Public Health Agency of Canada (PHAC), Ministère de la santé et des services sociaux and Institut national de santé publique du Québec. In particular, we thank Jules Konan Koffi for stimulating discussion, Stéphanie Brazeau and Yann Pelcat for assisting in cartography and LSPQ (Maurice Desgens) and NML personnel for laboratory work (Katie Bernat, Tyler Cote, and Antonia Dibernardo). Finally, we gratefully acknowledge many field assistants: Steeve Fournier, André-Pierre Gagnon, Amélie Langlois and Ian St-Amour.

References

- Anderson, D. R. and K. P. Burnham (2002). "Avoiding pitfalls when using information-theoretic methods." *Journal of Wildlife Management* 66(3): 912-918.
- Bouchard, C., G. Beauchamp, S. Nguon, L. Trudel, F. Milord, L. R. Lindsay, D. Belanger 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 and Tick Borne Diseases* 2(4): 183-90.
- Cortinas, M. (2007). Investigations of white-tailed deer infestation by *Ixodes scapularis* on the Illinois River, USA. Champaign-Urbana, IL, University of Illinois.
- 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*." *Journal of Clinical Microbiology* 42(7): 3164-3168.
- de la Fuente, J., R. F. Massung, S. J. Wong, F. K. Chu, H. Lutz, M. Meli, F. D. von Loewenich, A. Grzeszczuk, A. Torina, S. Caracappa, A. J. Mangold, V. Naranjo, S. Stuen and K. M. Kocan (2005). "Sequence analysis of the *msp4* gene of *Anaplasma phagocytophilum* strains." *Journal of Clinical Microbiology* 43(3): 1309-1317.
- Dohoo I., W. Martin and H. Stryhn (2003). *Veterinary epidemiologic research*. AVC inc. Charlottetown, PEI.
- Dormann, C. F., J. M. McPherson, M. B. Araujo, R. Bivand, J. Bolliger, G. Carl, R. G. Davies, A. Hirzel, W. Jetz, W. D. Kissling, I. Kuhn, R. Ohlemuller, P. R. Peres-Neto, B. Reineking, B. Schroder, F. M. Schurr and R. Wilson (2007). "Methods to account for spatial autocorrelation in the analysis of species distributional data: a review." *Ecography* 30(5): 609-628.

- Dugan, V. G., M. J. Yabsley, C. M. Tate, D. G. Mead, U. G. Munderloh, M. J. Herron, D. E. Stallknecht, S. E. Little and W. R. Davidson (2006). "Evaluation of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) as natural sentinels for *Anaplasma phagocytophilum*." *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 6(2): 192-207.
- Estrada-Pena, A. (2001). "Forecasting habitat suitability for ticks and prevention of tick-borne diseases." *Veterinary Parasitology* 98(1-3): 111-132.
- Ginsberg, H. S. and E. Zhioua (1999). "Influence of deer abundance on the abundance of questing adult *Ixodes scapularis* (Acari : Ixodidae)." *Journal of Medical Entomology* 36(3): 376-381.
- Hamer, S. A., J. I. Tsao, E. D. Walker and G. J. Hickling (2010). "Invasion of the Lyme disease vector *Ixodes scapularis*: Implications for *Borrelia burgdorferi* endemicity." *Ecohealth* 7(1): 47-63.
- Katavolos, P., P. M. Armstrong, J. E. Dawson and S. R. Telford (1998). "Duration of tick attachment required for transmission of granulocytic ehrlichiosis." *Journal of Infectious Diseases* 177(5): 1422-1425.
- Keefe, L. M., M. H. Moro, J. Vinasco, C. Hill, C. C. Wu and E. A. Raizman (2009). "The use of harvested white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) and geographic information system (GIS) Methods to characterize distribution and locate spatial clusters of *Borrelia burgdorferi* and its vector *Ixodes scapularis* in Indiana." *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 9(6): 671-680.
- Kitron, U., C. J. Jones, J. K. Bouseman, J. A. Nelson and D. L. Baumgartner (1992). "Spatial analysis of the distribution of *Ixodes dammini* (Acari, Ixodidae) on white-tailed deer in Ogle County, Illinois." *Journal of Medical Entomology* 29(2): 259-266.
- Koffi, J. K., P. A. Leighton, Y. Pelcat, L. Trudel, L. R. Lindsay, F. Milord and N. H. Ogden (2012). "Passive surveillance for *I. scapularis* ticks: Enhanced analysis for early detection of emerging Lyme disease risk." *Journal of Medical Entomology* 49(2): 400-409.

- Lacombe, E., P. W. Rand and R. P. Smith (1993). "Disparity of *Borrelia burgdorferi* infection rates of adult *Ixodes dammini* on deer and vegetation." *Journal of Infectious Diseases* 167(5): 1236-1238.
- Legendre, L., and P. Legendre. 1983. *Numerical ecology*, pp. 419, *Developments in environmental modelling*. Elsevier, New York, USA.
- 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. *Journal of Applied Ecology* 49: 457-464.
- Lesage, L., M. Crete, J. Huot, A. Dumont and J. P. Ouellet (2000). "Seasonal home range size and philopatry in two northern white-tailed deer populations." *Canadian Journal of Zoology- Revue Canadienne De Zoologie* 78(11): 1930-1940.
- Lindsay, L. R., S. W. Mathison, I. K. Barker, S. A. McEwen, T. J. Gillespie and G. A. Surgeoner (1999). "Microclimate and habitat in relation to *Ixodes scapularis* (Acari : Ixodidae) populations on Long Point, Ontario, Canada." *Journal of Medical Entomology* 36(3): 255-262.
- Loken, K. I., C. C. Wu, R. C. Johnson and R. F. Bey (1985). "Isolation of the Lyme disease spirochete from mammals in Minnesota." *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 179(3): 300-302.
- Magnarelli, L. A., J. F. Anderson and M. L. Cartter (1993). "Geographic distribution of white-tailed deer with ticks and antibodies to *Borrelia burgdorferi* in Connecticut." *Yale Journal of Biology and Medicine* 66(1): 19-26.
- Magnarelli, L. A., A. Denicola, K. C. Stafford and J. F. Anderson (1995). "*Borrelia burgdorferi* in an urban environment - white-tailed deer with infected ticks and antibodies." *Journal of Clinical Microbiology* 33(3): 541-544.

- Massung, R. F., J. W. Courtney, S. L. Hiratzka, V. E. Pitzer, G. Smith and R. L. Dryden (2005). "*Anaplasma phagocytophilum* in white-tailed deer." *Emerging Infectious Diseases* 11(10): 1604-1606.
- Massung, R. F., K. Lee, M. Mauel and A. Gusa (2002b). "Characterization of the rRNA genes of *Ehrlichia chaffeensis* and *Anaplasma phagocytophila*." *DNA and Cell Biology* 21(8): 587-596.
- Massung, R. F., M. J. Mauel, J. H. Owens, N. Allan, J. W. Courtney, K. C. Stafford and T. N. Mather (2002a). "Genetic variants of *Ehrlichia phagocytophila*, Rhode Island and Connecticut." *Emerging Infectious Diseases* 8(5): 467-472.
- Nakajima, R., M. Tsuji, K. Oda, A. Zamoto-Niikura, Q. Wei, T. Kawabuchi-Kurata, A. Nishida and C. Ishihara (2009). "*Babesia microti*-group parasites compared phylogenetically by complete sequencing of the CCT eta gene in 36 isolates." *Journal of Veterinary Medical Science* 71(1): 55-68.
- Nelson, M. E. and L. D. Mech (1981). "Deer social organization and wolf predation in Northeastern Minnesota." *Wildlife Monographs*(77): 1-53.
- Nelson, M. E. and L. D. Mech (1984). "Home range formation and dispersal of deer in Northeastern Minnesota." *Journal of Mammalogy* 65(4): 567-575.
- Ogden, N. H., I. K. Barker, G. Beauchamp, S. Brazeau, D. F. Charron, A. Maarouf, M. G. Morshed, C. J. O'Callaghan, R. A. Thompson, D. Waltner-Toews, M. Waltner-Toews and L. R. Lindsay (2006a). "Investigation of ground level and remote-sensed data for habitat classification and prediction of survival of *Ixodes scapularis* in habitats of southeastern Canada." *Journal of Medical Entomology* 43(2): 403-414.
- Ogden, N. H., M. Bigras-Poulin, C. J. O'Callaghan, I. K. Barker, L. R. Lindsay, A. Maarouf, K. E. Smoyer-Tomic, D. Waltner-Toews and D. Charron (2005). "A dynamic population model to

- investigate effects of climate on geographic range and seasonality of the tick *Ixodes scapularis*." *International Journal for Parasitology* 35(4): 375-389.
- Ogden, N. H., C. Bouchard, K. Kurtenbach, G. Margos, L. R. Lindsay, L. Trudel, S. Nguon and F. Milord (2010). "Active and passive surveillance and phylogenetic analysis of *Borrelia burgdorferi* elucidate the process of Lyme disease risk emergence in Canada." *Environmental Health Perspectives* 118(7): 909-914.
- Ogden, N. H., L. R. Lindsay, M. Morshed, P. N. Sockett and H. Artsob (2009). "The emergence of Lyme disease in Canada." *Canadian Medical Association Journal* 180(12): 1221-1224.
- Ogden, N. H., R. L. Lindsay, K. Hanincova, I. K. Barker, M. Bigras-Poulin, D. F. Charron, A. Heagy, C. A. Francis, C. J. O'Callaghan, I. Schwartz and R. A. Thompson (2008). "Role of migratory birds in introduction and range expansion of *Ixodes scapularis* ticks and of *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum* in Canada " *Applied and Environmental Microbiology* 74(12): 1780-1790.
- Ogden, N. H., L. Trudel, H. Artsob, I. K. Barker, G. Beauchamp, D. F. Charron, M. A. Drebot, T. D. Galloway, R. O'Handley, R. A. Thompson and L. R. Lindsay (2006b). "*Ixodes scapularis* ticks collected by passive surveillance in Canada: Analysis of geographic distribution and infection with Lyme Borreliosis agent *Borrelia burgdorferi*." *Journal of Medical Entomology* 43(3): 600-609.
- Piesman, J. and A. Spielman (1979). "Host associations and seasonal abundance of immature *Ixodes dammini* (Acarina, *Ixodidae*) in Southeastern Massachusetts." *Annals of the Entomological Society of America* 72(6): 829-832.
- Piesman, J., A. Spielman, P. Etkind, T. K. Ruebush and D. D. Juranek (1979). "Role of deer in the epizootiology of *Babesia microti* in Massachusetts, USA." *Journal of Medical Entomology* 15(5-6): 537-540.

- Quinn, G. P. and M. J. Keough (2002). "Experimental design and data analysis for biologists."
Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Rand, P. W., C. Lubelczyk, G. R. Lavigne, S. Elias, M. S. Holman, E. H. Lacombe and R. P. Smith
(2003). "Deer density and the abundance of *Ixodes scapularis* (Acari : *Ixodidae*)." *Journal of
Medical Entomology* 40(2): 179-184.
- Randolph, S. E. (2004). "Tick ecology: processes and patterns behind the epidemiological risk posed
by ixodid ticks as vectors." *Parasitology* 129: S37-S65.
- Steiner, F. E., R. R. Pinger, C. N. Vann, M. J. Abley, B. Sullivan, N. Grindle, K. Clay and C. Fuqua
(2006). "Detection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia odocoilei* DNA in *Ixodes
scapularis* (Acari : *Ixodidae*) collected in Indiana." *Journal of Medical Entomology* 43(2): 437-
442.
- Tate, C. M., D. G. Mead, M. P. Luttrell, E. W. Howerth, V. G. Dugan, U. G. Munderloh and W. R.
Davidson (2005). "Experimental infection of white-tailed deer with *Anaplasma
phagocytophilum*, etiologic agent of human granulocytic anaplasmosis." *Journal of Clinical
Microbiology* 43(8): 3595-3601.
- Telford, S. R., T. N. Mather, S. I. Moore, M. L. Wilson and A. Spielman (1988). "Incompetence of deer
as reservoirs of the Lyme disease spirochete." *American Journal of Tropical Medicine and
Hygiene* 39(1): 105-109.
- Thompson, C., A. Spielman and P. J. Krause (2001). "Coinfecting deer-associated zoonoses: Lyme
disease, babesiosis, and ehrlichiosis." *Clinical Infectious Diseases* 33(5): 676-685.
- Tsao, J. I. (2009). "Reviewing molecular adaptations of Lyme borreliosis spirochetes in the context of
reproductive fitness in natural transmission cycles." *Veterinary Research* 40(2):36.
- Watson and Anderson (1976). "*Ixodes scapularis* Say on white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*)
from Long Point, Ontario." *Journal of Wildlife Diseases* 12: 66-71.

Wilson, M. L., A. M. Ducey, T. S. Litwin, T. A. Gavin and A. Spielman (1990). "Microgeographic distribution of immature *Ixodes dammini* ticks correlated with that of deer." *Medical and Veterinary Entomology* 4(2): 151-159.

Wilson, M. L., S.R. Telford III, J. Piesman and A. Spielman (1988). "Reduced abundance of immature *Ixodes dammini* (Acari, Ixodidae) following elimination of deer." *Journal of Medical Entomology* 25(4): 224-228.

Zuur, A. F. 2009. *Mixed effects models and extensions in ecology with R*, pp. 574, *Statistics for biology and health*. Springer, New York, USA.

Figures

Figure 6. Distribution of harvested white-tailed deer sampled in southwestern Quebec, 2007-2008

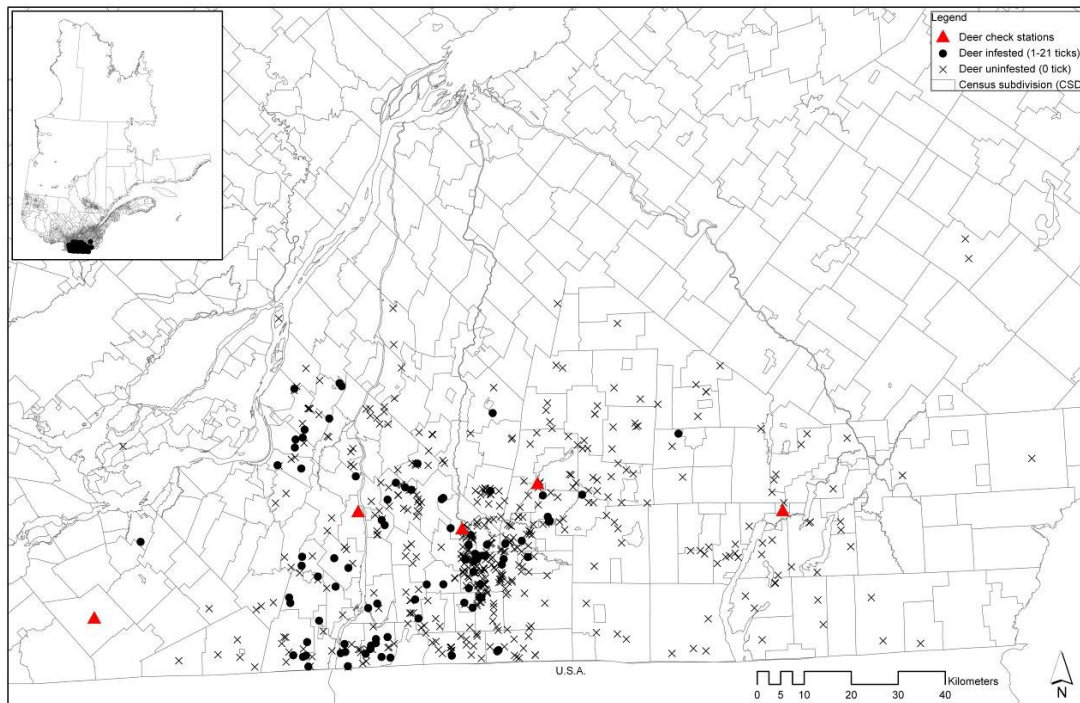
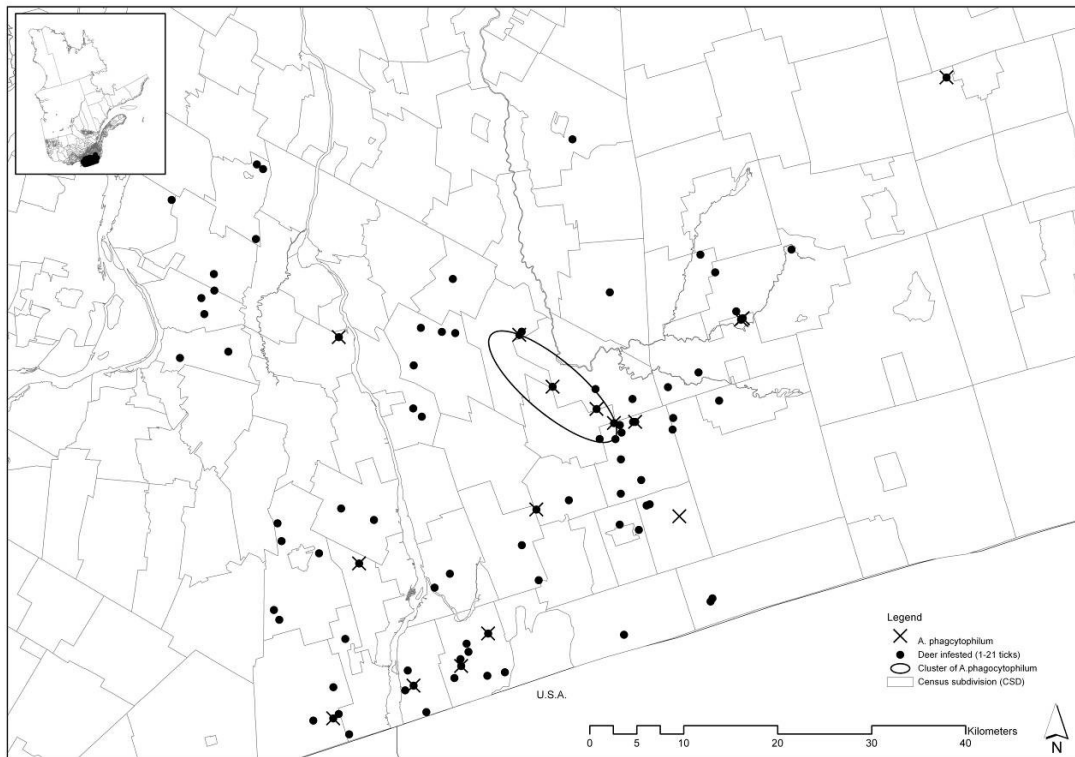


Figure 7. Spatial clusters of deer infested (≥ 2 ticks) and census subdivisions in which active surveillance occurred in southwestern Quebec in 2007 and 2008 are also shown shaded dark gray if they contained an *I. scapularis* population and light gray if no tick population was found



Figure 8. Spatial cluster of *A. phagocytophilum* collected from infested white-tailed deer in southwestern Quebec, 2007-2008



Tables

Table IX. *Ixodes scapularis* infestations from different sex and age groups of harvested deer in 2007-2008, in southwestern Quebec

Sampling year	No. deer examined	No. deer infested	No. males infested		No. females infested	
			Adult	Juvenile	Adult	Juvenile
2007	144	26	24 (30.4) ^a	1 (8.3)	1 (2.5)	0 (0.0)
2008	439	62	43 (24.0)	5 (10.6)	12 (7.1)	2 (5.0)
Total	583	88	67 (26.0)	6 (10.2)	13 (6.2)	2 (3.8)
Mean intensity of infestation ^b			3.2 (1.1)	1.3 (0.4)	1.5 (0.1)	1 (0.0)

^a Percentage of deer infested in each category (given in parentheses)

^b Mean number of *I. scapularis* ticks per tick-infested deer (SE)

Table X. Prevalence of vector-borne zoonoses in adult *I. scapularis* collected from white-tailed deer in southwestern Quebec, 2007-2008.

Sampling year	No. tested	No. (%) infected with <i>B. burgdorferi</i>	No. (%) infected with <i>A. phagocytophilum</i>
2007	111	0 (0.0)	16 (14.4)
2008	132	8 (6.1)	20 (15.2)
Total	243	8 (3.3)	36 (14.8)

Table XI. The AIC and degrees of freedom (df) for the Poisson GLM, NB GLM, ZIP and ZINB models for each final statistical model

	Model	AIC	Df
<i>Model 1</i>	Poisson GLM	341.9	4
	NB GLM	293.2	5
	ZIP	302.2	5
	ZINB	294.8	6
<i>Model 2</i>	Poisson GLM	1094.6	5
	NB GLM	733.7	6
	ZIP	838.9	6
	ZINB	735.7	7
<i>Model 3</i>	Poisson GLM	1092.5	5
	NB GLM	736.7	6
	ZIP	835.4	6
	ZINB	738.7	7

Table XII. The variables, parameter estimates (β), standard errors (SE), z-values and p-values for three negative binomial generalized linear models in which the number of *I. scapularis* parasitizing harvested white-tailed deer was the outcome variable.

	Explanatory variables	β	SE	z-value	p-value
Model 1^a (ticks from known populations)	Sex (Male vs female)	1.72	0.49	3.51	< 0.01
	Temperature	3.23	0.66	4.87	< 0.01
	Precipitation	0.83	0.36	2.31	0.02
Model 2^b (ticks from presumed populations)	Delay of examination	-0.52	0.18	-2.92	< 0.01
	Age (Juvenile vs adult)	-1.58	0.45	-3.55	< 0.01
	Sex (Male vs female)	1.87	0.31	5.96	< 0.01
	Precipitation	-0.36	0.15	-2.46	0.01
Model 3^b (host-dispersed ticks)	Delay of examination	-0.44	0.17	-2.51	0.01
	Age (Juvenile vs adult)	-1.58	0.44	-3.59	< 0.01
	Sex (Male vs female)	2.02	0.31	6.52	< 0.01
	Adventitious ticks index	0.30	0.14	2.15	0.03

^a Only a subset of deer were analysed, n=226 (see Materials and Methods)

^b All deer were analysed, n=583 (see Materials and Methods)

Table XIII. Summary of spatial cluster analysis for *I. scapularis*-infested deer and deer carrying *A. phagocytophilum*-infected ticks sampled in southwestern Quebec.

Clusters	Minor axis (Km)	Major axis (Km)	Observed/expected	RR	LRR	p-value
<i>I. scapularis</i>	45.13	67.70	29/7.91 (3.66)	7.53	26.58	< 0.01
<i>A. phagocytophilum</i>	5.71	17.13	10/1.95 (5.13)	6.72	13.64	< 0.01

RR, Relative risk; LRR, log likelihood ratio

Article 3: Does high biodiversity reduce the risk of Lyme disease invasion?¹⁰

Bouchard, C.¹, Beauchamp, G.¹, Leighton, P.A.¹, Lindsay, L.R.², Bélanger, D.¹, Ogden, N.H.^{1,3}

¹ Groupe de recherche en épidémiologie des zoonoses et santé publique, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada

² Zoonotic Diseases and Special Pathogens, Public Health Agency of Canada, National Microbiology Laboratory, Winnipeg, Manitoba, Canada

³ Zoonoses Division, Centre for Food-borne, Environmental and Zoonotic Infectious Diseases, Public Health Agency of Canada, St-Hyacinthe, Québec, Canada

¹⁰ Article publié dans *Parasites & Vectors* (2013b) vol. 6 :195.

Abstract

It has been suggested that increasing biodiversity, specifically host diversity, reduces pathogen and parasite transmission amongst wildlife (causing a “dilution effect”) whereby transmission amongst efficient reservoir hosts, (e.g. *Peromyscus* spp. mice for the agent of Lyme disease *Borrelia burgdorferi*) is reduced by the presence of other less efficient host species. If so then increasing biodiversity should inhibit pathogen and parasite invasion¹¹. We investigated this hypothesis by studying invasion of *B. burgdorferi* and its tick vector *Ixodes scapularis* in 71 field sites in southeastern Canada. Indices of trapped rodent host diversity, and of biodiversity of the wider community, were investigated as variables explaining the numbers of *I. scapularis* collected and *B. burgdorferi* infection in these ticks. A wide range of alternative environmental explanatory variables was also considered. The observation of low *I. scapularis* abundance and low *B. burgdorferi* infection prevalence in sites where *I. scapularis* were detected was consistent with early-stage invasion of the vector. There were significant associations between the abundance of ticks and season, year of study and ambient temperature. Abundance of host-seeking larvae was significantly associated with deer density, and abundance of host-seeking larvae and nymphs were positively associated with litter layer depth. Larval host infestations were lower where the relative proportion of non-*Peromyscus* spp. was high. Infestations of hosts with nymphs were lower when host species richness was higher, but overall nymphal abundance increased with species richness because *Peromyscus* spp. mouse abundance and host species richness were positively correlated. Nymphal infestations of hosts were lower where tree species richness was higher. *B. burgdorferi* infection prevalence in ticks varied significantly with an index of rates of migratory bird-borne vector and pathogen invasion. *I. scapularis* abundance and *B. burgdorferi* prevalence varied with explanatory variables in patterns consistent with the known biology of

¹¹ Invasion : Accroissement durable de l’aire de répartition d’une population.

these species in general, and in the study region in particular. The evidence for a negative effect of host biodiversity on *I. scapularis* invasion was mixed. However, some evidence suggests that community biodiversity beyond just host diversity may have direct or indirect inhibitory effects on parasite invasion that warrant further study.

Keywords

Ixodes scapularis, *Borrelia burgdorferi*, Lyme, host, biodiversity, invasion.

Introduction

The agent of Lyme disease in the Northeast and Midwestern North America, *Borrelia burgdorferi sensu stricto* (hereafter referred to as *B. burgdorferi*), is transmitted by the blacklegged tick, *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) (Spielman et al. 1979, Burgdorfer et al. 1982, Davis et al. 1984, Piesman et al. 1986). Lyme disease risk is increasing in southern parts of eastern and central Canada due to *I. scapularis* ticks that are expanding their geographic range northwards through tick dispersion by songbirds during spring migration and facilitation of the establishment of tick populations by a warming climate (Ogden et al. 2006b, Ogden et al. 2008a, Ogden et al. 2008b). In the following we use the term “biodiversity” for the species diversity occurring in the whole biotic community of a site. When focussing on species diversity within particular groups we use the term “diversity”.

Invasion by non-native species, including pathogens, is frequently considered to have a direct or indirect negative effect on biodiversity in invaded ecosystems (Powell et al. 2011, Swei et al. 2011a, Andreou et al. 2012, Swei et al. 2012). However, host species diversity has been hypothesised as a factor that reduces the transmission of micro- and macro-parasites, and this possible effect has been termed the ‘dilution effect’ (LoGiudice et al. 2003, Telfer et al. 2005, Keesing et al. 2006, LoGiudice et al. 2008, Keesing et al. 2010, Wood and Lafferty 2012). The infectious disease transmission system for which the effects of biodiversity have been most examined is that of *B. burgdorferi* (Randolph and Dobson 2012). However, convincing field evidence of host diversity diminishing Lyme disease transmission cycle occurrence is, in the eyes of some scientists, limited (Dobson 2004, Begon 2008, Randolph and Dobson 2012). Here we hypothesise that if biodiversity is a factor that reduces transmission of *B. burgdorferi* and other pathogens and parasites, it should also be a factor that inhibits (i.e. slows or prevents) invasion of pathogens and parasites into a new location. *Ixodes scapularis* ticks, followed by *B. burgdorferi*,

are currently invading southeastern and south central Canada offering us a unique opportunity to investigate whether or not biodiversity has an effect on the invasion of these species.

Previously, the effect of host diversity has been considered as a factor affecting parasite and pathogen transmission cycles. *B. burgdorferi* circulates in an enzootic cycle between *I. scapularis* ticks and mammalian and avian tick and/or reservoir hosts (Eisen and Lane 2002). *Peromyscus leucopus*, the white-footed mouse, has frequently been considered as a key reservoir host for *B. burgdorferi* in North America and this seems to be true for sites in southern Quebec, Canada (Bouchard et al. 2011). Due to the host generalist behaviour of *I. scapularis*, increasing diversity of animal host species increases the possibility that ticks are diverted away from *P. leucopus* onto animals that are less efficient reservoirs of *B. burgdorferi*, which could result in a dilution effect (Keesing et al. 2009). However, the increased abundance of hosts associated with increasing biodiversity would likely boost abundance of ticks (which are obligate parasites at all feeding life stages), which calls into question the existence of a consistent inverse relationship between host biodiversity and tick and tick-borne pathogen abundance (Ogden and Tsao 2009, Swei et al. 2011b).

If increasing biodiversity does inhibit invasion by reducing pathogen and parasite transmission amongst hosts, then in the zone of *B. burgdorferi* and *I. scapularis* invasion in southern Quebec, tick abundance and *B. burgdorferi* infection prevalence in ticks should be lower in locations where biodiversity is higher. We investigate possible effects of host diversity, but we also consider the more holistic view that biodiversity may impact on tick survival and pathogen transmission cycles by mechanisms involving competitors, predators and pathogens/parasites (for example) that are independent of host species diversity. In particular we explore direct measures or indices of vertebrate host diversity, but also indices such as tree species richness that may act as proxy

measure of biodiversity of the wider community, as factors associated with tick and *B. burgdorferi* occurrence.

At the same time, a range of other environmental factors that are known to influence tick-borne disease transmission and invasion of ticks and tick-borne pathogens needed to be taken into consideration. These included i) inter-site variations in abiotic environmental factors such as climate, elevation, aspect, drainage and slope that affect tick survival (Ogden et al. 2004, Diuk-Wasser et al. 2006, Ogden et al. 2006b, Killilea et al. 2008); and ii) inter-site variations in the rate of import of ticks and bacterium on/in migratory birds (Ogden et al. 2008a) or terrestrial hosts from neighbouring or more distant source locations where the invading ticks and tick-borne pathogens are already established (Koffi et al. 2012). In addition, our findings need to be interpreted in light of the likely unequilibrium population dynamics of ticks and *B. burgdorferi* as these organisms become established (Hamer et al. 2012).

Methods

Study sites

The study was carried out in southwestern Quebec at 71 sites: 46 sites were visited in 2007 and an additional 25 sites were visited in 2008. The 71 sites were located in three different regions of Quebec (Montérégie, Estrie and Montréal) covering 5,325 km² (Figure 9). Some sites were visited once only either in 2007 and 2008 (one single visit per site from June to October in 2007 or from May to October in 2008), but some sites visited in 2007 were revisited in 2008 (see Bouchard et al. 2011 for details).

Sites were selected on the basis of comprising deciduous (maple or mixed deciduous) woodland (Lindsay et al. 1999) of minimal dimensions 500 m by 150 m, and ease of access (Ogden et al.

2008b, Bouchard et al. 2011). Sampling was conducted within a 75,000 m² (150m x 500m) trapping grid.

Collection and sampling of ticks and captured mammals

Host-seeking ticks were collected by a standard effort of 3 person-hours of dragging a 1 m² white cotton flannel sheet using a standard pattern (drags occurring parallel to, and either side of, each trap transect) within the trapping grid at each site visit. Drag sampling did not occur during periods of heavy rainfall.

At each site, 150 Sherman™ live traps were placed in three parallel transects of 50 traps each for one or two consecutive days and nights. Traps were placed for two nights if fewer than 15 *Peromyscus* spp. mice (white-footed mice and deer mice) were captured on the first night. This sample size was required to give adequate statistical power for the study objectives of determining the geographic scope of establishment of *B. burgdorferi* and *I. scapularis* ticks in southwestern Quebec (for details see Bouchard et al. 2011). Feeding ticks were collected from trapped rodents according to previously described protocol (Bouchard et al. 2011).

Following capture, animals were lightly anaesthetised as previously described (Bouchard et al. 2011) and then thoroughly examined for ticks. Any ticks found were collected into tubes containing 75% ethanol. Blood was collected from each *P. leucopus* mouse with a 23 gauge needle and syringe directly from the heart, or via the infra orbital sinus using 150 µl Natelson™ blood collecting tubes, and placed in sample tubes containing EDTA. In 2008, eastern chipmunks and red squirrels were also bled for serological analyses since more than 10% of *I. scapularis* were found on these species in 2007. All procedures were undertaken with appropriate ethical approval by the Ministère des Ressources naturelles et de la Faune of the Province of Quebec (MRNF) and the *Université de Montréal* (see Bouchard et al. 2011 for further details).

Testing of tick and rodent samples for B. burgdorferi infection

Ticks were identified using standard keys (Clifford et al. 1961, Keirans et al. 1996) and DNA was extracted from *I. scapularis* ticks and tested for the presence of *B. burgdorferi* by polymerase chain reaction (PCR). DNA was obtained using Qiagen® DNeasy® 96 Tissue kits (QIAGEN Inc., Mississauga, ON, Canada) optimized for recovery of low-copy number DNA from ticks, and extraction efficiency was assessed using primers specific for the tick 5.8S rRNA - 28S rRNA intergenic spacer (IGS). DNA was screened for evidence of *B. burgdorferi* infection using a multiplex real-time PCR targeting the 23S rRNA of *B. burgdorferi* as previously described (Courtney et al. 2004). *B. burgdorferi* infection was then confirmed in positive samples using primers targeting the *ospA* gene (Ogden et al. 2006a).

Plasma were separated from the blood samples by centrifugation at 2,000 g for 6 minutes and kept frozen (-20°C) until shipment on dry ice to the National Microbiology Laboratory (NML) for testing. All plasma were tested for IgG antibodies to *B. burgdorferi* using an in-house immunofluorescent assay, followed by a Western blot on reactive samples in 2007, and a two-tier ELISA and Western blot assays, adapted for testing rodent sera, in 2008, as previously described (Hofmeister et al. 1999).

Collection and development of explanatory variables (see Table XIX)

Hosts

Wild small mammals

For each location and visit, the number of captured *Peromyscus* mice (*P. leucopus* and *P. maniculatus* combined), total numbers of rodent captures, rodent species richness, Shannon

diversity index (Magurran 1988) and the relative proportion of captured rodents that were not *Peromyscus* species were used as covariates.

White-tailed deer

Since deer are essential hosts for adult *I. scapularis* and also host immature *I. scapularis*, their density would be expected to influence *I. scapularis* density (Keefe et al. 2009). The density of white-tailed deer was estimated from harvested male deer distributions obtained from the *Ministère des ressources naturelles et de la faune* du Québec (MRNF) database for 2007 and 2008 (ftp://ftp.mrnf.gouv.qc.ca/Public/Defh/Publications/Archives/Daigle%202007_Rapport-syst-suivi.pdf). We extracted a deer density estimate at each different site location based on these data. Deer abundance estimates from aerial censuses are positively correlated with hunted male deer estimates used in this study area ($R^2=0.84$) (Daigle and Crépeau 2003).

Abiotic environmental factors

Climatic conditions, particularly ambient temperature, have been recognised as a consistently important determinant of where *I. scapularis* can become established in Canada, during modelling studies, field validation of model outcomes, and analysis of surveillance data (Ogden et al. 2005, Ogden et al. 2008b, Ogden et al. 2010, Bouchard et al. 2013). Therefore climate is a factor that needs to be accounted for any assessment of biodiversity impact on invasion by *I. scapularis*.

To do this, temperature and precipitation data were obtained from Environment Canada for all southwestern Quebec meteorological stations during 2003-2008 (http://climate.weatheroffice.gc.ca/prods_servs/index_e.html). Temperatures above 0°C were summed for each day of the year to obtain annual accumulated degree days > 0°C (DD > 0°C which is a useful index of temperature suitability for *I. scapularis*;) at each climate station in

southern Quebec and an interpolated surface of DD > 0°C was obtained from these data using inverse distance weighting (IDW) as previously described (Ogden et al. 2008b, Ogden et al. 2010). From the interpolated surfaces, we extracted a value of mean annual DD > 0°C for each site. Total annual rainfall (mm) for each site was obtained using the same interpolation method.

Soil type (based on percentage of sand, clay and organic matter: Lee et al. 1988), and site aspect (categorized as 1: hill crest, 2: upper slope, 3: middle slope, 4: lower slope, 5: toe [land immediately beyond the foot of a slope], 6: depression, 7: tableland and 8: complex [a mix of the previous]) were assessed and recorded on the first site visit. Site slope gradient (gradient based on slope %) and index of soil drainage at each site (null to very good drainage) were obtained from 3rd or 4th inventory of Système d'information écoforestière (SIEF) of MRNF at a scale of 1:20,000 (<http://www.mrnf.gouv.qc.ca/forets/connaissances/connaissances-inventaire-cartes-sief.jsp>). These variables would be expected to most strongly affect the environment of non-parasitic ticks undergoing development in the litter layer, affecting mortality of these ticks as a consequence of dehydration in very dry habitats or drowning in very wet habitats (Ogden et al. 2005, Ogden et al. 2006c).

Biotic environmental factors

Species richness of mature trees and the understory herbs and shrubs were assessed on the first site visit: the species of all trees and shrubs within, or overhanging, the trapping grid were identified, and as many herbs as possible were identified within a 2 hour period. In addition values for litter depth (in cm), tree population age, tree height (in m) and density, and the patch size (in km²) of the forest within which the site occurred were obtained from the SIEF inventories (<http://www.mrnf.gouv.qc.ca/forets/connaissances/connaissances-inventaire-cartes-sief.jsp>).

The patch size might be an indirect measure of rodent host density and host diversity (Allan et al. 2003, Swihart et al. 2003), while forest inventory metrics of tree age, height and density may acts

as proxy indices of woodland maturity, degree of disturbance, biodiversity (Rondeau 1999, Paquette and Messier 2011) and more general habitat classifications act as indices of the suitability of habitat for off-host tick survival (Ogden et al. 2005).

Accounting for rates of I. scapularis and B. burgdorferi immigration

Introduction via migratory birds

Northward migrating passerines in spring are thought to be a significant route for introduction of *I. scapularis* and *B. burgdorferi* into southern Canada. The timing and routes of migration mean that these birds acquire questing ticks (particularly nymphs, which may be infective for *B. burgdorferi*) in locations in the northeast and mid-west of the USA where *I. scapularis* and *B. burgdorferi* are established. Attached nymphal ticks can then be dispersed north into and across Canada for distances of 450km or more (Ogden et al. 2008a, Ogden et al. 2008b). With knowledge of the main geographic locations in the USA and Canada where *I. scapularis* and *B. burgdorferi* are established we have developed an index of the numbers of immigrating bird-borne ticks (the 'adventitious tick index') for southern Canada in general (Ogden et al. 2008a) and for each of the 71 study sites in particular (Leighton et al. 2012, Bouchard et al. 2013). This index is effectively also an index of rates of introduction of *B. burgdorferi* by migratory birds or the ticks they carry.

Introduction by terrestrial hosts

We do not have any indices of rates of movement of *I. scapularis* or *B. burgdorferi* by terrestrial hosts. However, we assumed that if rates of immigration of ticks or bacterium in/on terrestrial/resident hosts were having a significant impact on the observed pattern of *I. scapularis* or *B. burgdorferi* occurrence amongst the study sites, the spatial pattern of establishment of *I. scapularis* or *B. burgdorferi* (Leighton et al. 2012) would be reflected in significant spatial

autocorrelation (Legendre and Legendre 1983). The possible presence of spatial autocorrelation (which would in any case violate the assumption of independence of observations for all analyses), was explored in post-hoc analyses of residuals using semi-variograms plotted as a function of geographic distance (Dormann et al. 2007).

Statistical analyses

We used R software v.2.13.2 (R development Core Team, 2008) for all statistical models, which accounted in all cases for year of study (2007 versus 2008) and season ('spring' being April to June and 'summer' being July to October), amongst which tick and mammal abundance vary.

The following models were developed:

Models 1-4. Models investigating factors affecting *I. scapularis* abundance: Given a high level of overdispersion of the questing and feeding tick counts, generalized linear models (GLM) with a negative binomial distribution were used to model tick abundance following elimination of zero-inflated Poisson and zero-inflated negative binomial models as alternatives on the basis of best fit (determined on the basis of the lowest AICc). Four outcomes were explored: i) abundance of questing larvae, ii) abundance of questing nymphs, iii) abundance of feeding larvae, and iv) abundance of feeding nymphs. All explanatory variables were used in all models, however the number of captured mammals was also included as an offset in the latter two.

Model 5. A model investigating factors affecting the abundance of *Peromyscus* mice: A linear regression model was constructed to investigate factors explaining the numbers of *Peromyscus* mice captured. All environmental and host explanatory variables were used in the model, with the exception of the number of *Peromyscus* mice captured.

Model 6. A model investigating factors associated with *B. burgdorferi* infection in feeding ticks. A logistic regression model was developed with *the B. burgdorferi* PCR result of feeding ticks as the outcome. Infection in questing ticks was not investigated as few of these were positive at the time of sampling. All environmental and host variables were explored.

In all models site ID was treated as a random effect. In each model, explanatory variables were tested individually with a liberal cut-off of $P < 0.2$ in a multivariable model and then we selected the most parsimonious multivariable model through a process of forward and backward substitution and elimination. The cut-off for keeping a variable in the final model was $P < 0.05$. To account for possible multicollinearity between covariates, we set a threshold of 3 for variance inflation factors (Zuur 2009).

Results and discussion

Tick abundance and B. burgdorferi infection

Details of the numbers of ticks and rodents collected are presented in previous work (Ogden et al. 2010, Bouchard et al. 2011) and these data are summarised in Tables XIV and XV. *I. scapularis* ticks were found on 37 different sites by flagging and/or examination of trapped mammals. Of 1278 *I. scapularis* ticks collected, 932 were larvae, 309 were nymphs and 37 were adults. Almost all *I. scapularis* ticks were found in Montérégie region. *I. scapularis* nymphs were found at 28 of the 71 sites. At all but one of the sites where *I. scapularis* were found in 2007, at least one tick was found when we revisited the sites in 2008. Overall, we found immature *I. scapularis* ticks at 34 sites (2 instars at 13 sites and 3 instars at 8 sites) and adult ticks at 11 sites (Ogden et al. 2010). Evidence of transmission of *B. burgdorferi* (PCR-positive ticks or seropositive rodents) was found at 7 sites (see Figure 9). The prevalence of infection in ticks was 1.8–3.3% of feeding larvae (12–22 of 675 tested; 11 larval ticks from one rodent were pooled and the pool tested positive), 0.7% (1 of

135 tested) of questing nymphs, 9.9% (17 of 172 tested) of feeding nymphs, and 5.6% (2 of 36) of questing adults (Table XIV). Questing larvae were not tested because *B. burgdorferi* is not transmitted from female *I. scapularis* to their progeny (Patrican 1997).

Together these findings indicated that *I. scapularis* was establishing in sites in southern Quebec, but that the tick and bacterium may be at a relatively early stage of establishment in terms of the abundance of ticks and the prevalence of *B. burgdorferi* infection. Modelling studies suggest that while maximum tick population densities at any particular location may be limited or regulated by environmental and host factors, it will take a number of population cycles for tick abundance to approach the potential maximum for that location (Ogden et al. 2013). Such studies also identify low tick abundance as a limiting factor on invasion of *B. burgdorferi* and the prevalence of infection in ticks and hosts (Ogden et al. 2007, Ogden et al. 2013).

Associations of explanatory variables with the abundance of I. scapularis and B. burgdorferi occurrence

Details of statistical model results are presented in Tables XVI, XVII and XVIII.

Abiotic factors

As anticipated, temperature conditions were significantly associated with the abundance of ticks in each of models 1-4, which is consistent with all studies on *I. scapularis* in Canada (Ogden et al. 2008b, Ogden et al. 2010, Leighton et al. 2012). *I. scapularis* were more abundant in 2008 than 2007 while accounting for site in the models (most sites with *I. scapularis* in 2007 were re-visited in 2008), consistent with increasing abundance of ticks as their populations become more firmly established. Season was a significant factor for infestations of hosts with nymphs (which were greater in spring: Table XVI) and numbers of captured *Peromyscus* spp. mice (which were greater

in summer: Table XVII). Both of these findings are consistent with the known seasonal activity pattern of *I. scapularis* and seasonal variations in *Peromyscus* spp. densities in the region (Bouchard et al. 2011). In northeastern North America nymphal *I. scapularis* are most abundant in spring (due to their lifecycle and the suitability of spring weather for tick activity), while *P. leucopus* abundance is lowest in spring, and then increase in late summer/autumn due to recruitment of young mice (Ogden et al. 2007).

Steeper site gradients were negatively associated with infestations of rodents with feeding larvae and nymphs, suggesting that steeper gradients provide less suitable habitat for ticks (Glass et al. 1994). Increased drainage was associated with increased infestation levels, suggesting greater survival in the sites with greater drainage consistent with studies in the USA (Guerra et al. 2002), but particularly relevant in our study area where many woodlands flood regularly in springtime (Ogden et al. 2006c)

(http://foliogis.ducks.ca/qc/fr/monteregie/reg16_rapport_avrilo8.pdf).

Biotic and biodiversity-associated factors

Litter depth was positively associated with numbers of larvae and nymphs collected by dragging. This is consistent with increased leaf litter providing a more 'insulated' refuge that better protects ticks from extremes of temperature and desiccation thus promoting their survival (e.g. (Gassner et al. 2011)). However, litter depth was not associated with abundance of feeding larvae and nymphs so the possibility that litter depth simply altered the ability of dragging to collect ticks (perhaps by affecting how high ticks quest from the woodland floor) cannot be ruled out.

High deer density was significantly associated with high abundance of questing larvae collected by dragging, and high larval (but not nymphal) infestations of rodents. This is consistent with deer being the principal hosts for adult ticks, which, following detachment, egg laying and egg

development would give rise to the next cohort of larvae. Clearly nymphal abundance will depend on larval abundance and so indirectly depend on deer abundance, but it is not surprising that deer density may have a less detectable association with nymphal abundance as there is considerable mortality between larval and nymphal instars for a wide range of deer-independent factors. Indeed, the ratio of feeding larvae to feeding nymphs on the rodents was approximately 8 to 1 after accounting for the approximately two-fold difference in duration of feeding of larvae and nymphs.

Infestations of rodents with feeding larvae were lower on sites where the relative proportion of *Peromyscus* spp. mice was lower, consistent with Bouchard et al. (2011) where we identified that *Peromyscus* spp. mice carried the majority of larvae on our study sites. This could be due to greater contact rates with questing larvae by virtue of mouse behaviour and habitat use, ineffective innate or acquired immune responses to ticks, and/or less effective grooming compared to other species (Bouchard et al. 2011). In addition, infestation of rodents with nymphal *I. scapularis* was lower on sites with higher species richness. These observations suggest that higher relative abundance of *Peromyscus* spp. favours *I. scapularis* invasion, but it does not directly support a hypothesis of host diversity reducing risk of tick invasion because the density of *Peromyscus* spp. on the sites (assuming numbers captured equate with density) increased with species richness (Table XVII). This latter observation is somewhat counterintuitive considering the general perception that *P. leucopus* mice abundance (which were the most abundant *Peromyscus* species) are higher in disturbed and fragmented habitats that are considered to favour these generalist species and to be associated with lower host biodiversity (Ostfeld and Keesing 2000, Brownstein et al. 2005). So where species richness is greater, nymphal infestations were lower, but *Peromyscus* mouse abundance was higher, which raises the question, what is the net effect of increasing rodent species richness on feeding nymph densities on the sites? We estimate that the effect on feeding nymph abundance, of increasing species richness by one

species, would be a reduction in 1.76 feeding nymphs per site using the following simple equation:

$$dN = e^{cnb} * Nr * R$$

where dN is the decrease in the number of feeding nymphs per site, cnb is the coefficient (-0.18) for the effect of change in rodent richness in the negative binomial regression model for feeding nymphs (Model 4 in Table XVI), Nr is the mean number of nymphs per rodent ($173/1295 = 0.133$), and R is the median number of rodents per observation (17).

In contrast the effect of increasing species richness by one species on increasing nymph abundance, via effects of species richness on *Peromyscus* spp. abundance, was estimated as 1.85 using the following equation:

$$\Delta N = Np * cr * P$$

Where ΔN is the increase in the number of feeding nymphs per site, Np is the mean number of nymphs per *Peromyscus* mouse ($98/810 = 0.121$), cr is the coefficient for the effect of change in rodent richness in the regression model for *Peromyscus* capture numbers (Model 5, Table XVII) in Table XVII, and P is the median number of *Peromyscus* spp. mice per observation (11).

Combining these two opposite effects, increased nymphal abundance due to increasing *Peromyscus* spp. mouse density with greater species richness, would more than account for decreased host infestation levels and result in an overall (albeit small) increase in abundance of feeding nymphs on the sites here.

There was evidence that increases in overall community diversity, beyond just rodent host diversity, may inhibit tick survival and invasion: richness of mature tree species was significantly

and negatively associated with nymphal infestation levels (Table XVI). Other significant environmental variables include mature tree height (positively associated with larval tick infestations) and mature tree density (negatively associated with nymphal tick infestations) (Table XVII). Both of the latter variables could be proxies for particular types of habitat and be indirect measures of host abundance or off-host tick survival. Tree density has been identified as being correlated with biodiversity on one study (Paquette & Messier 2011). Therefore further exploration of the associations between tree species richness, tree height, tree density, community biodiversity and tick occurrence and survival are needed.

Variables associated with I. scapularis and B. burgdorferi immigration

Abundance of *I. scapularis* of any stage was not detectably associated with our proxies for rates of immigration. This finding is consistent with the abundance of ticks on *I. scapularis*-positive sites being due to intrinsic factors affecting tick reproduction and survival in newly-established tick populations rather than relatively low numbers of immigrating ticks migratory bird-borne ticks (Ogden et al. 2011). However, the 'adventitious tick index', as a proxy of variation in rates of immigration of *B. burgdorferi* amongst sites, was the only factor significantly associated with infection in engorged larvae and nymphs suggesting that rates of immigration of *B. burgdorferi* rather than factors associated with site-specific transmission were the most important determinants of infection levels at the time the study took place. This is consistent with our knowledge of the current status of ticks and *B. burgdorferi* invasion in the region and underlines the dynamic non-equilibrium status of tick and *B. burgdorferi* populations in invasion zones (Hamer et al. 2012). In turn this highlights the need for more longitudinal studies in sentinel sites to understand the temporal dynamics of invasion of tick-borne pathogens.

Conclusions

There was remarkable consistency of model outcomes with the known biology of *I. scapularis* and *B. burgdorferi* in general, and in the region where these species are invading in southern Canada in particular. This provides confidence in the methods and results, and of our capacity to correctly interpret the latter.

Larval infestations of rodents were lower on sites with a greater proportion of non-*Peromyscus* spp hosts, although this was not correlated with host species richness. There was, however, evidence that increasing host diversity was associated with reduced nymphal tick infestations of rodent hosts, which could be interpreted as evidence of a dilution effect inhibiting invasion of *I. scapularis*. However increased species richness was associated with higher *Peromyscus* spp. mouse abundance, and we estimated that the increase in nymphal abundance associated with increasing mouse abundance would more than account for reduced individual host nymphal tick infestations and that overall feeding nymphal tick abundance was positively correlated with host species richness. Therefore there was conflicting evidence for an effect of host biodiversity on *I. scapularis* invasion.

There was an association between tree species diversity on the study sites and reduced host nymphal tick infestations, suggesting a possible inhibitory effect of a more diverse community on *I. scapularis* invasion. Further study is needed to confirm if this association is a directly mechanistic effect of biodiversity or a proxy for other environmental effects on tick survival. Variations in *B. burgdorferi* infection prevalence in ticks was associated with an index for rates of invasion rather than local site characteristics supporting the assumption that *B. burgdorferi* invasion in the study region was at an early stage at the time of sampling. This reinforces the

need for longitudinal studies at sentinel sites to better understand pathogen and parasite invasion processes.

Acknowledgements

This study was jointly funded by the Public Health Agency of Canada (PHAC), *Ministère de la santé et des services sociaux* and *Institut national de santé publique du Québec*. In particular, we thank François Milord, Soulyvane Nguon and Louise Trudel for their implication in the Lyme disease epidemiosurveillance project, Stéphanie Brazeau and Yann Pelcat for assisting in geomatics and Maurice Desgens of LSPQ and Katie Bernat, Tyler Cote, Antonia Dibernardo of NML for assistance with laboratory analyses and the MRNF (Éric Jaccard) for sharing data of deer density. Finally, we gratefully acknowledge field assistants: Steeve Fournier, André-Pierre Gagnon, Amélie Langlois and Ian St-Amour.

References

- Allan, B. F., F. Keesing, and R. S. Ostfeld. 2003. Effect of forest fragmentation on Lyme disease risk. *Conserv. Biol.* 17: 267-272.
- Andreou, D., K. D. Arkush, J. F. Guegan, and R. E. Gozlan. 2012. Introduced pathogens and native freshwater biodiversity: a case study of *Sphaerothecum destruens*. *PLoS One* 7: e36998.
- Begon, M. 2008. Effects of host diversity on disease dynamics, pp. 12-29. In R. S. Ostfeld, Keesing, F. & Eviner, V.T. (ed.), *Infectious disease ecology: Effects of ecosystems on disease and of disease on ecosystems* Princeton University Press, Princeton, New Jersey, USA.
- Bouchard, C., G. Beauchamp, S. Nguon, L. Trudel, F. Milord, L. R. Lindsay, D. Belanger, 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.
- Brownstein, J. S., D. K. Skelly, T. R. Holford, and D. Fish. 2005. Forest fragmentation predicts local scale heterogeneity of Lyme disease risk. *Oecologia* 146: 469-475.
- Burgdorfer, W., A. G. Barbour, S. F. Hayes, J. L. Benach, E. Grunwaldt, and J. P. Davis. 1982. Lyme disease: a Tick-borne spirochetosis. *Science* 216: 1317-1319.
- Clifford, C., G. Anastos, and A. Elbl. 1961. The larval ixodid ticks of the eastern United States. *Misc Pub Ent Soc America* 2: 215-244.

- 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.
- Daigle, C., and H. Crépeau. 2003. Proportion de cerfs sans bois dans la récolte de cerfs de Virginie: bilan de dix-huit années d'expérience. Société de la faune et des parcs du Québec.
- Davis, J. P., W. L. Schell, T. E. Amundson, M. S. Godsey, A. Spielman, W. Burgdorfer, A. G. Barbour, M. Laventure, and R. A. Kaslow. 1984. Lyme-Disease in Wisconsin - Epidemiologic, clinical, serologic, and entomologic findings. *Yale J. Biol. Med.* 57: 685-696.
- Diuk-Wasser, M. A., A. G. Gatewood, M. R. Cortinas, S. Yaremych-Hamer, J. Tsao, U. Kitron, G. Hickling, J. S. Brownstein, E. Walker, J. Piesman, and D. Fish. 2006. Spatiotemporal patterns of host-seeking *Ixodes scapularis* nymphs (Acari : Ixodidae) in the United States. *J. Med. Entomol.* 43: 166-176.
- Dobson, A. 2004. Population dynamics of pathogens with multiple host species. *Am. Nat.* 164 Suppl 5: S64-78.
- Dormann, C. F., J. M. McPherson, M. B. Araujo, R. Bivand, J. Bolliger, G. Carl, R. G. Davies, A. Hirzel, W. Jetz, W. D. Kissling, I. Kuhn, R. Ohlemuller, P. R. Peres-Neto, B. Reineking, B. Schroder, F. M. Schurr, and R. Wilson. 2007. Methods to account for spatial autocorrelation in the analysis of species distributional data: a review. *Ecography* 30: 609-628.
- Eisen, L., and R. S. Lane. 2002. Lyme borreliosis: Biology, epidemiology and control., pp. 91-115. In J. S. Gray, O. Kahl, R. S. Lane and G. Stanek (eds.). CABI, New York, USA.
- Gassner, F., A. J. van Vliet, S. L. Burgers, F. Jacobs, P. Verbaarschot, E. K. Hovius, S. Mulder, N. O. Verhulst, L. S. van Overbeek, and W. Takken. 2011. Geographic and temporal variations

- in population dynamics of *Ixodes ricinus* and associated *Borrelia* infections in The Netherlands. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 11: 523-532.
- Glass, G. E., F. P. Amerasinghe, J. M. Morgan, 3rd, and T. W. Scott. 1994. Predicting *Ixodes scapularis* abundance on white-tailed deer using geographic information systems. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 51: 538-544.
- Guerra, M., E. Walker, C. Jones, S. Paskewitz, M. R. Cortinas, A. Stancil, L. Beck, M. Bobo, and U. Kitron. 2002. Predicting the risk of Lyme disease: habitat suitability for *Ixodes scapularis* in the north central United States. *Emerg. Infect. Dis.* 8: 289-297.
- Hamer, S. A., G. J. Hickling, J. L. Sidge, E. D. Walker, and J. I. Tsao. 2012. Synchronous phenology of juvenile *Ixodes scapularis*, vertebrate host relationships, and associated patterns of *Borrelia burgdorferi* ribotypes in the midwestern United States. *Ticks Tick Borne Dis* 3: 65-74.
- Hofmeister, E. K., B. A. Ellis, G. E. Glass, and J. E. Childs. 1999. Longitudinal study of infection with *Borrelia burgdorferi* in a population of *Peromyscus leucopus* at a Lyme disease-enzootic site in Maryland. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 60: 598-609.
- Keefe, L. M., M. H. Moro, J. Vinasco, C. Hill, C. C. Wu, and E. A. Raizman. 2009. The use of harvested white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) and geographic information system (GIS) methods to characterize distribution and locate spatial clusters of *Borrelia burgdorferi* and its vector *Ixodes scapularis* in Indiana. *Vector Borne and Zoo. Dis.* 9: 671-680.
- Keesing, F., R. D. Holt, and R. S. Ostfeld. 2006. Effects of species diversity on disease risk. *Ecol. Lett.* 9: 485-498.
- Keesing, F., J. Brunner, S. Duerr, M. Killilea, K. Logiudice, K. Schmidt, H. Vuong, and R. S. Ostfeld. 2009. Hosts as ecological traps for the vector of Lyme disease. *Proc Biol Sci* 276: 3911-3919.

- Keesing, F., L. K. Belden, P. Daszak, A. Dobson, C. D. Harvell, R. D. Holt, P. Hudson, A. Jolles, K. E. Jones, C. E. Mitchell, S. S. Myers, T. Bogich, and R. S. Ostfeld. 2010. Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases. *Nature* 468: 647-652.
- Keirans, J. E., H. J. Hutcheson, L. A. Durden, and J. S. Klompen. 1996. *Ixodes (Ixodes) scapularis* (Acari:Ixodidae): redescription of all active stages, distribution, hosts, geographical variation, and medical and veterinary importance. *J. Med. Entomol.* 33: 297-318.
- Killilea, M. E., A. Swei, R. S. Lane, C. J. Briggs, and R. S. Ostfeld. 2008. Spatial dynamics of Lyme disease: A review. *EcoHealth* 5: 167-195.
- Koffi, J. K., P. A. Leighton, Y. Pelcat, L. Trudel, L. R. Lindsay, F. Milord, and N. H. Ogden. 2012. Passive surveillance for *I. scapularis* ticks: enhanced analysis for early detection of emerging Lyme disease risk. *J. Med. Entomol.* 49: 400-409.
- Lee, H. T., J. Bakowsky, J. Riley, J. Bowles, M. Puddister, P. Uhlig, and S. McMurray. 1988. Ecological land classification for southern Ontario: First approximation and its application. In S. S. S. Ontario Ministry of Natural Resources, Science Development and Transfer Branch. [ed.].
- Legendre, L., and P. Legendre. 1983. Numerical ecology, pp. 419, Developments in environmental modelling. Elsevier, New York, USA.
- 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.
- Lindsay, L. R., S. W. Mathison, I. K. Barker, S. A. McEwen, and G. A. Surgeoner. 1999. Abundance of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) larvae and nymphs in relation to host density and habitat on Long Point, Ontario. *J. Med. Entomol.* 36: 243-254.

- 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. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 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.
- Magurran, A. E. 1988. *Ecological diversity and its measurement*, Princeton University Press, Princeton, New Jersey, USA.
- Ogden, N. H., and J. I. Tsao. 2009. Biodiversity and Lyme disease: dilution or amplification? *Epidemics* 1: 196-206.
- 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.*
- Ogden, N. H., M. Bigras-Poulin, J. O'Callaghan C, I. K. Barker, K. Kurtenbach, L. R. Lindsay, and D. F. Charron. 2007. Vector seasonality, host infection dynamics and fitness of pathogens transmitted by the tick *Ixodes scapularis*. *Parasitology* 134: 209-227.
- 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., C. Bouchard, K. Kurtenbach, G. Margos, L. R. Lindsay, L. Trudel, S. Nguon, and F. Milord. 2010. Active and passive surveillance and phylogenetic analysis of *Borrelia burgdorferi* elucidate the process of Lyme disease risk emergence in Canada. *Environ. Health Perspect.* 118: 909-914.
- 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.

- Ogden, N. H., G. Margos, D. M. Aanensen, M. A. Drebot, E. J. Feil, K. Hanincova, I. Schwartz, S. Tyler, and L. R. Lindsay. 2011. Investigation of genotypes of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes scapularis* ticks collected during surveillance in Canada. *Appl. Environ. Microbiol.* 77: 3244-3254.
- Ogden, N. H., L. Trudel, H. Artsob, I. K. Barker, G. Beauchamp, D. F. Charron, M. A. Drebot, T. D. Galloway, R. O'Handley, R. A. Thompson, and L. R. Lindsay. 2006a. *Ixodes scapularis* ticks collected by passive surveillance in Canada: Analysis of geographic distribution and infection with Lyme Borreliosis agent *Borrelia burgdorferi*. *J. Med. Entomol.* 43: 600-609.
- Ogden, N. H., L. R. Lindsay, K. Hanincova, I. K. Barker, M. Bigras-Poulin, D. F. Charron, A. Heagy, C. M. Francis, C. J. O'Callaghan, I. Schwartz, and R. A. Thompson. 2008a. 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.
- Ogden, N. H., I. K. Barker, G. Beauchamp, S. Brazeau, D. F. Charron, A. Maarouf, M. G. Morshed, C. J. O'Callaghan, R. A. Thompson, D. Waltner-Toews, M. Waltner-Toews, and L. R. Lindsay. 2006b. Investigation of ground level and remote-sensed data for habitat classification and prediction of survival of *Ixodes scapularis* in habitats of southeastern Canada. *J. Med. Entomol.* 43: 403-414.
- Ogden, N. H., L. St-Onge, I. K. Barker, S. Brazeau, M. Bigras-Poulin, D. F. Charron, C. M. Francis, A. Heagy, L. R. Lindsay, A. Maarouf, P. Michel, F. Milord, C. J. O'Callaghan, L. Trudel, and R. A. Thompson. 2008b. Risk maps for range expansion of the Lyme disease vector, *Ixodes scapularis*, in Canada now and with climate change. *Int J Health Geogr* 7: 24.
- Ostfeld, R. S., and F. Keesing. 2000. Pulsed resources and community dynamics of consumers in terrestrial ecosystems. *Trends Ecol. Evol.* 15: 232-237.
- Paquette, A., and C. Messier. 2011. The effect of biodiversity on tree productivity: from temperate to boreal forests. *Global Ecol. Biogeogr.* 20: 170-180.

- 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.
- Piesman, J., T. N. Mather, J. G. Donahue, J. Levine, J. D. Campbell, S. J. Karakashian, and A. Spielman. 1986. Comparative prevalence of *Babesia microti* and *Borrelia burgdorferi* in four populations of *Ixodes dammini* in eastern Massachusetts. *Acta Trop.* 43: 263-270.
- Powell, K. I., J. M. Chase, and T. M. Knight. 2011. A synthesis of plant invasion effects on biodiversity across spatial scales. *Am. J. Bot.* 98: 539-548.
- 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.
- Rondeau, J. 1999. Forest inventories and biodiversity. *Unasylva* 196: 35-41.
- Spielman, A., C. M. Clifford, J. Piesman, and M. D. Corwin. 1979. Human babesiosis on Nantucket Island, USA: description of the vector, *Ixodes (Ixodes) dammini*, n. sp. (Acarina: Ixodidae). *J. Med. Entomol.* 15: 218-234.
- Swei, A., R. S. Ostfeld, R. S. Lane, and C. J. Briggs. 2011a. Effects of an invasive forest pathogen on abundance of ticks and their vertebrate hosts in a California Lyme disease focus. *Oecologia* 166: 91-100.
- Swei, A., R. S. Ostfeld, R. S. Lane, and C. J. Briggs. 2011b. Impact of the experimental removal of lizards on Lyme disease risk. *Proc Biol Sci* 278: 2970-2978.
- Swei, A., C. J. Briggs, R. S. Lane, and R. S. Ostfeld. 2012. Impacts of an introduced forest pathogen on the risk of Lyme disease in California. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 12: 623-632.
- Swihart, R. K., T. M. Gehring, M. B. Kolozsvary, and T. E. Nupp. 2003. Responses of 'resistant' vertebrates to habitat loss and fragmentation: the importance of niche breadth and range boundaries. *Divers. Distrib.* 9: 1-18.

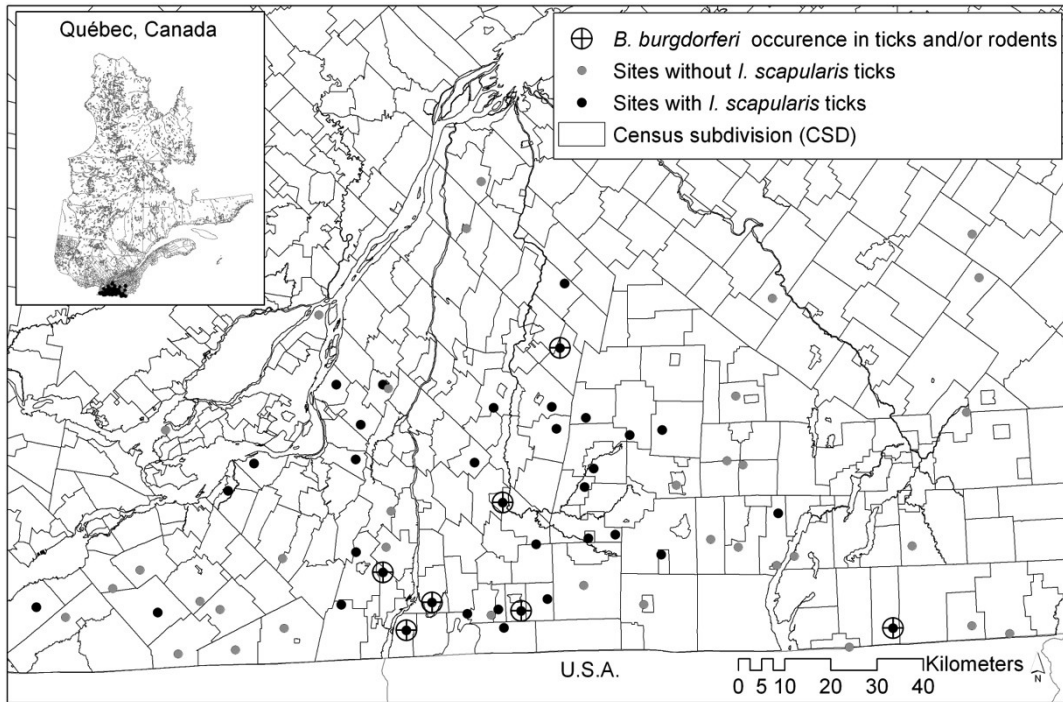
Telfer, S., K. J. Bown, R. Sekules, M. Begon, T. Hayden, and R. Birtles. 2005. Disruption of a host-parasite system following the introduction of an exotic host species. *Parasitology* 130: 661-668.

Wood, C. L., and K. D. Lafferty. 2012. Biodiversity and disease: a synthesis of ecological perspectives on Lyme disease transmission. *Trends Ecol. Evol.* 28: 239-247.

Zuur, A. F. 2009. Mixed effects models and extensions in ecology with R, pp. 574, *Statistics for biology and health*. Springer, New York, USA.

Figures

Figure 9. *Ixodes scapularis* and *B. burgdorferi* occurrence at the 71 sites in southwestern Quebec, 2007-2008



Tables

Table XIV. Number and *B. burgdorferi* infection status (Bb+) of questing and feeding ticks in three regions of southwestern Quebec, 2007-2008

Region	No. of sites	No. of visits	Larvae		Nymphs		Adults		Total (Bb+)
			QL ^a	FL (Bb+)	QN (Bb+)	FN (Bb+)	QA (Bb+)	FA (Bb+)	
Estrie	16	17	0	0 (0)	0 (0)	2 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (0)
Montréal	53	83	251	681 (22)	136 (1)	171 (17)	36 (2)	1 (0)	1276 (42)
Montréal	2	2	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Total	71	102	251	681 (22)	136 (1)	173 (17)	36 (2)	1 (0)	1278 (42)

^a Questing larvae were not tested for *B. burgdorferi* infection

Table XV. Number of rodents of each species captured during the study, and their infestations by immature *I. scapularis*. Reproduced with permission from Bouchard et al. (2011)

Host species	No. captured	No. larvae	No. nymphs	No. infested hosts		Mean intensity (range) of infestation (SE)			
				Larvae	Nymphs	Larvae		Nymphs	
<i>Peromyscus leucopus</i>	843	403	64	139	48	2.9	(1-18)	1.3	(1-4)
<i>Peromyscus maniculatus</i>	455	129	35	48	20	2.7	(1-11)	1.8	(1-11)
Unidentified <i>Peromyscus</i> spp.	65	0	0	0	0	0.0	.	0.0	.
<i>Blarina brevicauda</i>	185	18	0	7	0	2.6	(1-6)	0.0	.
Unidentified shrews (<i>Sorex</i> sp.)	136	21	2	6	2	3.5	(1-14)	1.0	(1)
<i>Myodes gapperi</i> / <i>Microtus</i> sp.*	170	5	0	5	0	1.0	(1)	0.0	.
<i>Zapus hudsonicus</i> / <i>N. insignis</i>	95	4	8	3	8	1.3	(1-2)	1.0	(1)
<i>Tamias striatus</i>	168	20	38	10	21	2.0	(1-7)	1.8	(1-4)
<i>Tamiasciurus hudsonicus</i>	39	75	26	5	4	15.0	(1-65)	6.5	(1-16)
<i>Mustela erminea</i>	2	6	0	1	0	6.0	.	0.0	.
<i>Glaucomys sabrinus</i>	1	0	0	0	0	0.0	.	0.0	.
Total	2159	681	173	224	103	3.0	.	1.7	.

**Microtus* sp. n=2

Table XVI. The variables, parameter estimates (β), standard errors (SE), z-values and p-values for two negative binomial generalized linear models of the count of questing and feeding ticks collected in southwestern Quebec, 2007-2008

Model	Outcome	Explanatory variables	β	SE	z-value	p-value
Model 1	Count of questing larvae	<i>Year</i> (2008 vs 2007)	2.18	0.97	2.25	0.02
		<i>Litter depth</i>	0.39	0.13	3.01	< 0.01
		<i>Temperature</i>	0.01	0.01	2.65	< 0.01
		<i>Deer density</i>	0.92	0.16	5.83	< 0.01
Model 2	Count of questing nymphs	<i>Year</i> (2008 vs 2007)	1.72	0.55	3.15	< 0.01
		<i>Litter depth</i>	0.22	0.07	3.04	< 0.01
		<i>Temperature</i>	0.01	0.00	2.41	0.02
		<i>Proportion of trapped mammals that were Peromyscus spp.</i>	1.98	0.99	1.99	0.05
Model 3	Count of feeding larvae	<i>Site gradient</i>	-1.68	0.55	-3.05	< 0.01
		<i>Drainage</i>	0.11	0.04	2.68	< 0.01
		<i>Height of mature trees</i>	0.42	0.21	2.06	< 0.01
		<i>Temperature</i>	1.46	0.43	3.42	< 0.01
		<i>Deer density</i>	1.10	0.23	4.80	< 0.01
		<i>Year</i> (2008 vs 2007)	1.05	0.01	10.75	< 0.01
Model 4	Count of feeding nymphs	<i>Season</i> (Summer vs spring)	-0.50	0.12	4.31	< 0.01
		<i>Species richness of rodents</i>	-0.18	0.05	-3.49	< 0.01
		<i>Site gradient</i>	-0.69	0.09	-8.19	< 0.01
		<i>Species richness of mature trees</i>	-0.04	0.02	-2.49	0.01
		<i>Density of mature trees</i>	-0.33	0.08	-4.34	< 0.01
		<i>Temperature</i>	0.33	0.10	3.25	< 0.01

Table XVII. The variables, parameter estimates (β), standard errors (SE), t-values and p-values for a linear regression model of the count of *Peromyscus* species captured in southwestern Quebec, 2007-2008

Model	Outcome	Explanatory variables	β	SE	t-value	p-value
Model 5	Numbers of <i>Peromyscus</i> mice captured	<i>Season</i> (Summer vs spring) ^a	7.34	1.20	6.10	< 0.01
		<i>Species richness of rodents</i>	1.38	0.60	2.28	0.02

^a Summer months: August, September, October vs Spring months: May, June, July

Table XVIII. The variables, parameter estimates (β), standard errors (SE), t-values and p-values for a logistic regression model of the occurrence of *B. burgdorferi* infection in feeding ticks collected in southwestern Quebec, 2007-2008

Model	Outcome	Explanatory variables	β	SE	t-value	p-value
Model 6a (feeding larvae)	<i>B. burgdorferi</i> infection status	<i>Adventitious tick index</i>	1.21	0.39	3.12	< 0.01
Model 6b (feeding nymphs)	<i>B. burgdorferi</i> infection status	<i>Adventitious tick index</i>	2.03	0.93	2.17	0.03

Table XIX. Description of environmental variables that were used in the statistical models.

Environmental variables	Units of measure	Mean	Median	SE	Range	Source
<i>Small mammals</i>						
Numbers of <i>Peromyscus</i> mice	count	12.74	13	7.24	0-28	Site
Proportion of <i>Peromyscus</i> mice	%	59.00	62.00	23.60	0-100	Site
Total numbers of rodents	count	21.28	19	10.90	0-48	Site
Species richness of rodents	count	4.16	4.00	1.85	0-10	Site
Shannon diversity index	low to high	1.02	1.14	0.49	0-2.01	Site
<i>White-tailed deer</i>						
Deer density estimate	/km ²	3.78	3.36	3.07	0.19-20.44	[1]
<i>Migratory birds</i>						
Adventitious tick index	low to high	59.79	62.00	6.10	44-68	[2]
<i>Habitat</i>						
Forest patch size	km ²	314.06	14.16	1357.73	0-6835.30	[3]
Species richness of mature trees	count	7.59	8	2.89	0-15	[3]
Species richness of understory	count	17.35	16	9.22	5-46	[3]
Tree population age	year (categorized)		30		10- \geq 100 at 10 year intervals	[3]
Tree height (dominant and codominant trees)	Category (m)		2 (17-22m)		1 (0m) - 7 (>22m)	[3]
Tree density	% covered (categorized)		2 (61-81%)		25% - >80%	[3]
<i>Climate</i>						
Temperature (mean annual)	DD > 0°C	3177.85	3215.95	152.83	2612.82-3341.25	[4]
Precipitation (total rainfall)	mm	1121.57	1120.58	86.83	981.09-1326.00	[4]
<i>Soil/slope</i>						
Proportion of sand	%	14.55	8.00	17.00	0-85.00	Site
Proportion of leaf mold	%	53.75	55.00	26.07	0-100.00	Site
Proportion of clay	%	31.7	28.00	27.83	0-95.00	Site

Environmental variables	Units of measure	Mean	Median	SE	Range	Source
Litter depth	cm	3.69	3.50	1.97	0.5-8.5	Site
Site aspect	Category		7		1-8*	Site
Slope gradient	Category		1 (0-3%)		1(0%)-6(>41%)	[3]
Index of soil drainage	Category		Moderate		Very poor, poor, moderate, good	[3]

Refer to methods for full description of these categories

EC = Environment Canada.

Data sources:

1. ftp://ftp.mrnf.gouv.qc.ca/Public/Defh/Publications/Archives/Daigle%202007_Rapport-syst-suivi.pdf

2. Leighton PA, Koffi JK, Pelcat Y, Lindsay LR, Ogden NH: 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* 2012, 49(2):457-464.

3. <http://www.mrnf.gouv.qc.ca/forets/connaissances/connaissances-inventaire-cartes-sief.jsp>.

4. http://climate.weatheroffice.gc.ca/prods_servs/index_e.html

Discussion générale

Cette thèse illustre l'émergence de la maladie de Lyme, et potentiellement d'autres maladies transmises par la tique *I. scapularis*, récemment établie dans le Sud-Ouest du Québec. L'objectif principal de ce projet était d'approfondir les connaissances sur les processus écologiques associés à l'émergence de la maladie de Lyme (ou d'autres maladies transmises par la tique *I. scapularis*). L'analyse à différents niveaux d'organisations (c.-à-d. au niveau du site, de l'hôte et de la tique) et l'inclusion de plusieurs facteurs environnementaux contextuels sont centraux à cette thèse et se démarquent des autres recherches négligeant, trop souvent, ces aspects (Ostfeld 2011). Cette approche éco-épidémiologique permet d'étudier les processus écologiques associés à l'établissement de populations de la tique *I. scapularis* et à l'émergence des maladies transmises par *I. scapularis* au Québec. Les nouvelles connaissances générées permettent d'identifier, donc de cibler, localement et régionalement les zones et futures zones à surveiller pour l'établissement, l'émergence et l'endémicité de ces maladies vectorielles. Les retombées en santé publique vétérinaire sont considérées majeures.

Cette discussion vise à développer certaines notions évoquées (c.-à-d. l'établissement, l'endémicité et l'émergence), mettre en valeurs les principaux résultats de la thèse, décrire les principales limites de l'étude, ainsi qu'à proposer des orientations futures pour la recherche sur la maladie de Lyme et les autres maladies transmises par la tique *I. scapularis*.

Les notions d'établissement, d'endémicité et d'émergence

Au Canada, une zone avec une population de tiques *I. scapularis* établie est définie comme une zone dans laquelle les trois stades de la tique sont présents, et ce pendant deux années consécutives. Une zone endémique pour la maladie de Lyme est une zone dans laquelle une population de tiques *I. scapularis* est établie et infectée par *B. burgdorferi* ou encore une zone où il y a eu au moins trois cas humains confirmés (Health Canada, 1991). La notion d'émergence peut être définie par l'augmentation du risque d'exposition à une maladie dans un cadre spatio-temporel donné (Blancou et al. 2005). Cette notion d'émergence s'applique pour le Sud-Ouest du Québec, et particulièrement dans la Montérégie (Ogden et al. 2010, Bouchard et al. 2011).

Réflexions sur les principaux résultats

Dans ce projet, nous avons identifié des sites d'établissement pour les populations de la tique *I. scapularis* et des sites endémiques pour la maladie de Lyme, ce qui était une première au Québec (Ogden et al. 2010). La Montérégie est qualifiée de zone émergente pour la maladie de Lyme par l'INSPQ depuis la publication de l'étude d'Ogden (2010). Ce contexte d'émergence est fondamental dans les études réalisées tout au long de cette thèse et explique en grande partie l'originalité de ce travail.

Pour la première fois au Canada, nous avons étudié l'écologie de la tique *I. scapularis* et l'agent *B. burgdorferi* dans une zone d'émergence. C'est également la première fois que les dynamiques saisonnières des tiques *I. scapularis* et des agents pathogènes transmis par ces tiques ont été étudiées dans un tel contexte, et ce mondialement. Une seule autre étude par Hamer (2010) s'est

intéressée à la dynamique d'invasion de la tique *I. scapularis* selon un gradient Sud-Nord dans le Michigan. Les résultats de cette étude ont surtout aidé à décrire les étapes de l'invasion d'espèces dans le cadre des maladies vectorielles et à identifier localement des zones d'émergence pour *I. scapularis* et d'autres agents pathogènes transmissibles.

Dans le premier chapitre de cette thèse, nous avons montré l'établissement de populations de la tique *I. scapularis* au Québec. Les populations d'*I. scapularis* récemment établies se caractérisaient par de faibles densités (Ogden et al. 2010). De plus, la ségrégation des stades immatures de la tique *I. scapularis* sur les différentes espèces d'hôtes et classes d'hôtes (comme décrit par Ostfeld (2011)) semblait ralentir l'introduction de l'agent *B. burgdorferi* dans un contexte d'émergence. La probabilité qu'un hôte soit infesté par une nymphe infectée et qu'ensuite, une larve se nourrisse et acquiert l'infection de cet hôte était probablement faible en raison de la combinaison de faibles densités de tiques et de la ségrégation des stades immatures infestant les différentes espèces d'hôtes (*Peromyscus* spp. vs *Tamias striatus* et *Tamiasciurus hudsonicus*).

Des études en Europe ont identifié le rôle clé des souris mâles (actives sexuellement) dans la transmission des agents infectieux transmis par les tiques (Randolph 1975, Randolph et al. 1999, Perkins et al. 2003). Dans notre étude, nous avons identifié, pour la première fois, une agrégation de l'infestation d'*I. scapularis* sur les souris mâles *Peromyscus* spp, ce qui est possiblement un facteur clé dans l'établissement du complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi* en Amérique du Nord. Dans le troisième chapitre, les cerfs mâles étaient aussi exposés plus fréquemment aux tiques *I. scapularis* en quête comparativement aux femelles ou juvéniles. Ce patron d'infestation sur les hôtes mâles (souris et cerfs) suggère la pertinence de la règle 20-80 dans la transmission d'agents infectieux (Perkins et al. 2003), où 20% des hôtes les plus infestés (mâles) sont responsables de 80% du potentiel de

transmission de l'infection.

L'activité saisonnière de la tique *I. scapularis* et les associations tiques-hôtes étaient globalement similaires à celle trouvée dans d'autres études dans le Nord-Est et Midwest de l'Amérique du Nord (Kurtenbach et al. 2006), ce qui valide l'utilisation des méthodes de surveillance standard (combinaison de la méthode de la flanelle et de la capture de rongeurs) pour la recherche de tiques et d'agents pathogènes transmis par ces tiques. Dans le Sud-Est du Canada, ces dernières méthodes semblent adéquates pour évaluer le risque environnemental.

Dans le deuxième chapitre, nous avons investigué l'infestation des cerfs abattus par la tique *I. scapularis* dans la zone d'établissement du complexe *I. scapularis-B. burgdorferi*. Cette étude a permis d'évaluer leur utilisation à titre de sentinelles pour les populations d'*I. scapularis* dans une zone d'émergence. Notre étude a montré que contrairement aux études des États-Unis où les cerfs ont été utilisés comme sentinelles (Cortinas 2007, Keefe et al. 2009), dans une zone d'émergence où la densité d'*I. scapularis* est faible, ils ont une grande sensibilité mais une faible spécificité. On peut supposer que comme pour les tiques recueillies sur des chiens dans les systèmes de surveillance passive (Ogden et al. 2006a), les cerfs sont très efficaces pour recueillir des tiques dispersées par les oiseaux migrateurs, d'où la faible spécificité. En outre, et en contraste avec des études faites aux États-Unis (Keefe et al. 2009), les cerfs semblent éliminer *B. burgdorferi* des tiques infectées qui se nourrissent, avec une prévalence d'infection de 3% comparativement à 8% dans l'environnement (Bouchard et al. 2013a). Il s'agit d'une première étude qui supporte l'hypothèse soulevée par Telford (1988). Ce résultat est aussi cohérent avec des études faites en Europe, lesquelles ont permis d'observer la lyse de la bactérie *B. burgdorferi* lors de l'activation du complément par le système immunitaire des cerfs ou d'autres ongulés (Jaenson and Talleklint 1992, Matuschka et al. 1993,

Kurtenbach et al. 1998). Nonobstant, l'utilisation des tiques collectées sur les cerfs semble efficace pour détecter l'agent *A. phagocytophilum*.

Dans le troisième chapitre, nous avons étudié le rôle de la biodiversité (c.-à-d. la diversité des hôtes et des éléments végétaux qui composent l'habitat) sur l'établissement du complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi*, ce qui à notre connaissance est aussi une première dans les domaines de l'écologie et de l'épidémiologie. Récemment, la théorie que l'augmentation de la biodiversité dans les populations fauniques limite le risque de transmission des agents infectieux vectoriels, est passée d'une hypothèse à un principe accepté de l'écologie moderne (Daszak et al. 2001, LoGiudice et al. 2003, Diaz et al. 2006, Dobson et al. 2006, Carlson et al. 2009, Keesing et al. 2010, Randolph and Dobson, 2012). Les interactions entre *I. scapularis*, *B. burgdorferi* et la communauté d'hôtes sont devenues un modèle pour décrire les effets de la diversité des hôtes sur la santé des écosystèmes et la transmission des agents infectieux (Randolph and Dobson 2012). Certains scientifiques remettent en question l'effet universellement inhibiteur de la diversité sur le risque environnemental de la maladie de Lyme de part le manque de preuves empiriques (Randolph and Dobson, 2012). D'autres suggèrent que l'augmentation de la biodiversité pourrait augmenter (amplifier) le risque de la maladie de Lyme d'après leur modèle théorique (Ogden and Tsao 2009). Cette dernière étude a proposé que l'augmentation de la diversité d'hôtes réduit la prévalence de l'infection chez les tiques en augmentant la proportion d'hôtes de tiques qui sont des réservoirs inefficaces de *B. burgdorferi*. L'augmentation de la diversité d'hôtes est généralement accompagnée par une augmentation de l'abondance relative des hôtes, ce qui augmente la densité des tiques et pourrait entraîner l'amplification du risque de transmission de la maladie de Lyme. L'étude décrite dans le troisième chapitre fournit les premières données empiriques à l'appui d'une amplification de l'infestation du

parasite (*I. scapularis*) avec une richesse plus importante de la communauté d'hôtes. L'augmentation de la richesse des espèces d'hôtes rongeurs a été associée à de faibles infestations par les nymphes, mais l'augmentation de la richesse a été associée à une augmentation du nombre de nymphes et donc une augmentation de la densité de tiques.

On pourrait en déduire que la diversité des hôtes n'a pas d'impact net, par conséquent, sur l'établissement du complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi*. Mais ce qui est particulier à notre étude, c'est que des indices de la diversité de l'habitat (les arbres mûres) ont été associés à des infestations d'hôtes et à des densités de tiques plus faibles. Donc l'augmentation de la biodiversité au niveau de la communauté entière pourrait en effet réduire le risque que les populations d'*I. scapularis* s'établissent et par conséquent l'émergence des agents pathogènes transmis par *I. scapularis*. Ce dernier facteur devrait être pris en compte dans les prévisions de la propagation de la tique *I. scapularis* et des agents infectieux transmis par les tiques ou dans la gestion du paysage de zones émergentes.

Ainsi, les modèles statistiques utilisés dans cette thèse nous ont permis d'identifier des facteurs environnementaux clés et nous permettent de comprendre les processus écologiques sous-jacents. De façon plus détaillée, l'effet des principaux facteurs environnementaux sur l'établissement du complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi* dans le Sud-Ouest du Québec sont décrits ci-dessous. Les facteurs sont regroupés selon leur importance dans : i) la phase d'introduction ou ii) la phase d'établissement du complexe.

i) Introduction du complexe I. scapularis-B. burgdorferi

L'influence des oiseaux migrants

D'après nos résultats, la tique *I. scapularis* semble introduite de façon significative par les oiseaux migrants en provenance des États-Unis (Tableau XII et XVIII). D'une part, l'infestation des cerfs par les adultes *I. scapularis* a été associée positivement à l'indice de dispersion des tiques *I. scapularis* par les oiseaux migrants dans le deuxième chapitre. D'autre part, ce même indice a été le seul facteur associé positivement au nombre de larves ou de nymphes infectées par *B. burgdorferi* dans le troisième chapitre. Les oiseaux migrants semblent donc contribuer à l'introduction de la tique *I. scapularis* et de l'agent *B. burgdorferi*, et reflètent le stade récent d'établissement du complexe *I. scapularis-B. burgdorferi*. Les oiseaux qui migrent vers le Nord au printemps peuvent être infestés par des nymphes actives *I. scapularis* qui proviennent du Nord-Est ou du Midwest des États-Unis (Anderson et al. 1986, Schulze et al. 1986, Magnarelli et al. 1992, Battaly and Fish 1993, Rand et al. 1998, Richter et al. 2000, Ogden et al. 2008b, Scott et al. 2010, Leighton et al. 2012). Les oiseaux migrants peuvent introduire l'agent *B. burgdorferi* en étant eux-mêmes infectés et en transmettant l'infection à des larves à leur arrivée ou via la dispersion de larves infectées en provenance des États-Unis. Comme peu d'oiseaux sont infectés et peu de larves sont actives au printemps, il s'agit d'un processus inefficace dans le Sud-Est du Canada (Ogden et al. 2008b). L'analyse des données de surveillance, montre un délai considérable entre l'établissement d'*I. scapularis* et de *B. burgdorferi* (environ 5 ans), ce qui suggère que l'introduction de l'agent *B. burgdorferi* est la conséquence de ce dernier processus (Ogden et al. 2013).

Néanmoins, leur contribution pourrait être moindre dans un stade plus avancé de l'établissement où les populations de tique à l'équilibre dans un écosystème donné seraient moins influencées par cet apport annuel de tique *I. scapularis*. L'étude d'Hamer (2010) a trouvé des cycles cryptiques¹² de *B. burgdorferi* dans le Michigan, dans lequel *B. burgdorferi* a été trouvé chez des espèces de tiques nidicoles. Contrairement à l'espèce *I. scapularis*, ces espèces, se nourrissent quasi exclusivement sur les hôtes de la faune et rarement ou jamais sur l'Homme. D'autres espèces de tiques ont été trouvées dans les sites d'étude au Québec et dans d'autres parties de l'Est du Canada, mais celles-ci sont soit des vecteurs non-compétents de *B. burgdorferi* (ex. : *Ixodes cookei*, *Dermacentor* spp., *Haemaphysalis leporispalustris*) ou soit des vecteurs compétents (ex. : *I. muris*, *I. dentatus*, *I. marxi*, *I. angustus*) sans évidence d'infection par *B. burgdorferi* jusqu'à présent (communication personnelle – Dr. Robbin Lindsay).

ii) Établissement du complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi*

L'influence des conditions climatiques

La survie et l'activité des tiques sont influencées par la dessiccation, le froid, l'humidité et leur succès à accrocher un hôte. Les conditions climatiques ont donc un effet direct sur le cycle de vie des tiques. Dans le deuxième et le troisième chapitre, l'indice de température plus élevé a été associé positivement au nombre de tiques retrouvées sur les hôtes. Dans le deuxième chapitre, les mesures de précipitations plus élevées ont été associées négativement à l'infestation des cerfs. Plusieurs études ont souligné le rôle du climat sur la survie, l'activité, la phénologie et le développement de la tique *I. scapularis* (Ogden et al. 2004, Diuk-Wasser et al. 2006, Ogden et al. 2006a, Killilea et al.

¹² Un cycle cryptique est un cycle indigène qui maintient l'infection via des vecteurs présents dans l'environnement qui se nourrissent sur des animaux de la faune.

2008). Au Canada, cet effet a été décrit selon des modèles théoriques et des modèles empiriques (Lindsay et al. 1995, Ogden et al. 2004-2005-2008a, Leighton et al. 2012).

L'activité et, par conséquent, la phénologie des tiques *I. scapularis* dépend grandement des conditions climatiques et influence la rapidité de la transmission de l'agent *B. burgdorferi* (Kurtenbach et al. 2006, Altizer et al. 2013). Dans le premier chapitre, notre étude indiquait que l'activité saisonnière des tiques *I. scapularis* dans le Sud-Ouest du Québec était similaire à celle de zone d'établissement et de zone endémique du Canada et du Nord-Est des États-Unis (Lindsay et al. 1999b, Ginsberg 1993) avec comme particularité une plus grande synchronisation de l'activité des stades immatures d'*I. scapularis*. En effet, les larves et les nymphes en quête étaient actives au printemps de façon synchrone, ce qui augmente les chances de transmission de *B. burgdorferi* entre les tiques et les micromammifères (Randolph 2004a). Cette dernière caractéristique (synchronicité des repas) peut avoir des conséquences sur les espèces et les souches de *B. burgdorferi* qui s'établissent au Québec. Les souches avec de courtes périodes d'infection pourraient être favorisées (Kurtenbach et al. 2006, Ogden et al. 2007b, Hanincova et al. 2008). Toutefois, les souches avec de longues périodes d'infection semblent naturellement davantage sélectionnées (Ogden et al. 2007b). D'autres études seront ainsi nécessaires pour déterminer les effets de la saisonnalité locale des tiques et d'autres évènements fondateurs stochastiques sur la diversité de *B. burgdorferi* présente au Canada.

Plus indirectement, les conditions climatiques ont un effet sur la dynamique de population des hôtes de la tique *I. scapularis* ou des hôtes réservoirs de *B. burgdorferi* dans un écosystème donné, ce qui influence aussi la dynamique d'établissement du complexe. Les conditions climatiques ont un effet significatif répertorié dans les zones endémiques de la maladie de Lyme en Amérique du Nord et

influence le risque entomologique et le risque épidémiologique (Goddard 1992, Estrada-Pena et al. 2002, Brownstein et al. 2003, Diuk-Wasser et al. 2006, Eisen et al. 2006). Enfin, une compréhension approfondie des effets du changement climatique sur les écosystèmes (hôtes, communautés, paysage) sera utile pour améliorer les prédictions ou réponses face au risque de la maladie de Lyme (Altizer et al. 2013).

L'influence de l'habitat

Cette étude n'avait pas comme objectif de caractériser complètement les éléments de l'habitat, puisque les sites avaient été présélectionnés selon certains critères d'habitat (Ogden et al. 2010, Bouchard et al. 2011, Bouchard et al. 2013b). Néanmoins, dans le troisième chapitre, la densité et la richesse des espèces d'arbres matures sur les sites était négativement associée à l'infestation des micromammifères par des nymphes (Tableau XVI). Cette relation inverse suggère un effet inhibiteur possible d'un habitat mature et diversifié sur l'établissement d'*I. scapularis* et par conséquent l'émergence des agents pathogènes transmis par *I. scapularis*. Il faut préciser que des habitats perturbés ont été associés à des risques entomologiques ou épidémiologiques plus élevés (Allan et al. 2003, Brownstein et al. 2005). Des études complémentaires seraient nécessaires pour confirmer si cette association reflète un mécanisme direct de l'effet de la diversité ou de la maturité de l'habitat ou est plutôt une variable représentant d'autres effets environnementaux sur la survie de la tique. Par ailleurs, peu d'études ont décrit les associations entre la composition de la forêt et la composition de la communauté d'hôtes abrités (Paquette and Messier 2011). Sans avoir détecté cette relation dans notre étude, on pourrait avancer l'hypothèse que le couvert forestier influence indirectement le ratio d'hôtes compétents vs les hôtes non-compétents et donc, pourrait affecter l'établissement du complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi*.

Dans le troisième chapitre, certaines caractéristiques du sol (c.-à-d. la profondeur de la litière et le drainage du sol) ont été associés au nombre de tiques *I. scapularis* collectées. L'établissement d'*I. scapularis* est associé à une litière profonde (propriété isolante) et à un drainage adéquat (évitant l'excès d'humidité) sur les sites étudiés. Par ailleurs, un plus grand relief aux sites d'étude était associé négativement au nombre de tiques collectées. Un site avec une plus grande dénivellation semble associé à un habitat moins propice pour la tique (Glass et al. 1994), ce qui est consistant avec d'autres études sur la tique *I. pacificus* (Talleklint-Eisen and Lan 2000, Li et al. 2010).

Dans un contexte plus avancé d'établissement, la composition de l'habitat sera possiblement un facteur qui intervient dans la variabilité de la densité d'*I. scapularis* infectées ou non et de la prévalence d'infection chez les hôtes réservoirs compétents.

L'influence des communautés d'hôtes

La présence d'hôtes compétents pour la tique *I. scapularis* ou la bactérie *B. burgdorferi* est un déterminant important pour l'établissement, la survie et le maintien du complexe *I. scapularis* - *B. burgdorferi* (Estrada-Pena 2008).

Dans le premier chapitre, les souris mâles adultes du genre *Peromyscus* et plus particulièrement *P. leucopus* étaient les hôtes les plus infestés par des larves ou des nymphes en comparaison avec les autres espèces et classes d'hôtes (Tableau VIII). Également, le rôle des écureuils et des tamias rayés a été observé par le grand nombre de nymphes se nourrissant sur ces hôtes (Tableau VII). Toutefois, ce sont des hôtes de *B. burgdorferi* moins compétents que la souris *P. leucopus* (Tsao et al. 2009). Ainsi, une répartition des stades immature d'*I. scapularis* sur les différentes espèces d'hôtes pourrait avoir une forte influence négative sur l'établissement de *B. burgdorferi*, dans un stade précoce

d'établissement des populations d'*I. scapularis* (faible densité). Par ailleurs, dans le premier et troisième chapitre, l'agrégation de l'infestation sur les hôtes mâles (souris et cerfs) a été observée. Ces résultats suggèrent que ce patron d'infestation est un facteur important dans l'établissement du complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi* et réitère la pertinence de la règle 20-80 telle qu'observée par Perkins (2003).

Dans le troisième chapitre, nous avons vu que plus la population de micromammifères était diversifiée, moins elle était infestée par les nymphes (Tableau XVI). Aussi, l'infestation des rongeurs par des larves était plus faible dans les sites avec une plus grande proportion d'hôtes non-*Peromyscus*. D'autres études ont identifié un effet de dilution sur la prévalence d'infection et la densité des tiques ou des tiques infectées lorsque la diversité des hôtes est grande (LoGiudice et al. 2003, LoGiudice et al. 2008, Keesing et al. 2009, Ostfeld 2011). Dans cette étude, l'effet semble plus complexe. L'augmentation de la richesse des espèces d'hôtes rongeurs a été associée à de faibles infestations par les nymphes, mais l'augmentation de la richesse a été associée à une augmentation du nombre de nymphe et donc une augmentation de la densité de tique. Cette étude fournit des preuves empiriques à l'appui d'une amplification nette de l'infestation par *I. scapularis* en augmentant la richesse de la communauté d'hôte.

Dans le deuxième chapitre, les cerfs sont des sentinelles efficaces pour détecter *A. phagocytophilum*, mais semblent inefficaces pour détecter les zones nouvellement endémiques pour le complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi*. En effet, un foyer épidémique d'*A. phagocytophilum* (Tableau XII et Figure 8) a été trouvé en Montérégie et où quatre cerfs sur cinq étaient infectés dans cet agrégat spatial (10 tiques positives/13 tiques testées). Ce résultat pourrait être un indicateur d'une épidémie d'*A. phagocytophilum* dans une population de cerfs naïve.

Enfin, dans le troisième chapitre, la densité des cerfs a été associée de façon positive au nombre de larves collectées par la méthode de la flanelle ou via les rongeurs capturés (Tableau XVI), d'où l'hypothèse qu'un seuil de densité de cerfs est nécessaire, quoique non suffisant, pour expliquer l'abondance de la tique *I. scapularis*. L'établissement et le maintien des populations des tiques *I. scapularis* seraient possibles au-delà d'un certain seuil de densité de cerfs (Hamer et al. 2010).

Limites

Les données collectées dans ce projet représentent un « portrait instantané » de l'établissement du complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi*. Ce type d'étude transversale permet d'effectuer des analyses corrélationnelles. Il faut aussi préciser que cette étude n'avait pas comme objectif de caractériser complètement les éléments de l'habitat, puisque les sites avaient été présélectionnés selon certains critères d'habitat (Ogden et al. 2010, Bouchard et al. 2011, Bouchard et al. 2013b). D'autres études seront ainsi nécessaires afin d'explorer davantage les processus écologiques discutés dans cette thèse. Des études transversales ou longitudinales basées sur une présélection de sites et de sites sentinelles seraient souhaitables afin de mieux étudier les dynamiques d'introduction, d'établissement, du maintien et/ou de l'expansion du complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi*. Par ailleurs, dans cette thèse, l'approche méthodologique avec des modèles de régression ne permettait pas de tenir compte de la dynamique et la complexité du système étudié, de part les boucles de rétro-action ou des variables d'intérêts qui dépendent d'un état précédent. Ainsi, d'autres méthodes mathématiques, par exemple la modélisation de système par équations différentielles serait à explorer et permettrait de décrire plus adéquatement les interactions entre les populations et leur environnement.

Le choix d'une échelle spatiale locale (le site) a permis de comprendre les processus écologiques locaux, et potentiellement régionaux (Montérégie, Estrie, Montréal), mais ces processus ne peuvent être extrapolés au-delà de ces échelles. De plus, la triade spirochètes-tiques-hôtes était nouvellement en interaction à l'intérieur de ces régions et donc suggère que les populations impliquées n'avaient probablement pas atteint un état d'équilibre. Il serait imprudent de généraliser les processus écologiques au-delà du cadre spatio-temporel à l'intérieur duquel ils ont été étudiés. La prochaine étape pourrait viser des études transversales, mais sur un plus grand nombre de sites pré-sélectionnés et ce, en tenant compte d'une échelle qui puisse répondre aux questions et objectifs de la surveillance ou de la recherche.

Des limites associées aux méthodes d'échantillonnage des tiques sur les hôtes (micromammifères ou cerfs) ont été notées au niveau du temps d'échantillonnage variable pour la collecte de tiques. La sous-estimation du nombre de tique collecté influence négativement notre capacité à détecter des associations significatives. Il serait toutefois simple de remédier à ce problème, soit en obtenant des permis d'euthanasie pour une gamme plus large d'espèces potentiellement réservoirs compétents ou en augmentant le temps d'inspection sur les cerfs abattus suivant l'approbation du chasseur.

D'autre part, le type de piège utilisé lors de la capture des micromammifères était adéquat pour les petits micromammifères tels les souris, campagnols ou musaraignes. D'autres pièges plus grands auraient été nécessaires afin de cibler des micromammifères ou mammifères de taille moyenne (ex. : écureuils, tamias, mouffette, etc.). Dans le futur, une méthode de piégeage qui combinerait différents types de pièges adaptés aux espèces hôtes permettrait d'établir avec plus de certitude la contribution relative des différents hôtes dans le cycle de transmission de la maladie de Lyme. Les indices de diversité de la communauté d'hôtes seraient également plus représentatifs. La sous-

estimation du nombre d'hôtes selon les espèces de rongeurs capturés influence négativement notre capacité à détecter un effet significatif de la diversité (composition) de la communauté sur l'infestation ou la densité des tiques. Néanmoins, l'impact sur la richesse de la communauté d'hôtes est probablement moindre, d'où l'effet significatif détecté dans le troisième chapitre.

Directions futures et recommandations

Implications pour la santé publique vétérinaire

Dans cette thèse, nous avons identifié et caractérisé des facteurs environnementaux pouvant expliquer la répartition des zones d'établissement de la tique *I. scapularis*, des zones endémiques pour *B. burgdorferi* et d'autres agents pathogènes transmis par *I. scapularis* (*A. phagocytophilum*). À notre connaissance, le travail de cette thèse est unique de part la description détaillée des facteurs environnementaux qui influencent potentiellement l'établissement et/ou l'endémicité du complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi*.

Les nouvelles connaissances générées par cette recherche seront utiles pour concevoir une large gamme de stratégies de surveillance, de prévention et de contrôle par les autorités de santé publique au Québec (particulièrement en Montérégie et les régions avoisinantes).

i) Surveillance

L'expansion de l'aire géographique d'établissement des tiques *I. scapularis* suit une progression rapide en Montérégie et dans les régions avoisinantes (c.-à-d. Estrie, Montréal, Lanaudière, Centre-

du-Québec) selon des données de surveillance active de 2009 à aujourd'hui (communication personnelle – Dr Jules Konan Koffi). Les résultats d'une modélisation estiment que la vitesse de progression de l'établissement des tiques est de 50 km par an (Leighton al. 2012). L'augmentation de la prévalence de *B. burgdorferi* chez les tiques semble suivre de 5 ans l'établissement de ces mêmes populations au Québec et plus généralement dans l'Est du Canada (Ogden et al. 2013). Ceci suggère que suivant l'établissement de la tique *I. scapularis*, la prévalence d'infection peut être faible *a priori* mais lorsque les densités de tiques augmentent et avec le temps, la prévalence de *B. burgdorferi* tend à augmenter (Hamer et al. 2010). Dans des régions endémiques du Nord-Est des États-Unis, les populations de tiques établies depuis plus longtemps ont une densité d'*I. scapularis* plus élevée (Diuk-Wasser et al. 2006, Walk et al. 2009). L'extension des zones urbaines et péri-urbaines, davantage peuplées, au contact de forêts ou fragments forestiers semble être une cause probable de l'augmentation du risque d'exposition et possiblement de l'augmentation de l'incidence humaine de la maladie de Lyme (Spielman et al. 1985, Allan et al. 2003).

Les stratégies de surveillance visant à étudier l'établissement, l'émergence, le maintien et l'endémicité du complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi* seront primordiales. La suite de la surveillance devrait donc passer par une continuité de la surveillance active et passive mais avec une vision à long terme. L'identification des objectifs et des questions d'intérêt en santé publique serait à prioriser afin de convenir d'une échelle géographique, de l'étendue géographique et des critères de sélection des sites, et le tout selon les capacités et expertises actuelles.

Au Québec et ailleurs au Canada, cette surveillance pourrait documenter de façon transversale et longitudinale, la dynamique spatio-temporelle de l'établissement et l'expansion du complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi*, et ce en tenant compte des différents facteurs environnementaux

impliqués. Ces études pourraient permettre déterminer les seuils de prévalence d'infection chez la tique *I. scapularis* (principalement la nymphe), de densité des tiques ou des tiques infectées en lien avec l'incidence des cas humains de la maladie de Lyme.

La surveillance de l'abondance ou de l'expansion de *P. leucopus* pourrait étayer les scénarios de dispersion du complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi* dans les régions voisines de la Montérégie (Rogic et al. 2013). Enfin, les effets des différents facteurs environnementaux soulignés dans cette thèse (c.-à-d. les hôtes, l'habitat, le climat, le sol, la biodiversité) pourraient être ré-évalués ou validés à d'autres régions à partir de données longitudinales.

Au-delà de la maladie de Lyme

D'autres agents infectieux sont transmis par la tique *I. scapularis* (c.-à-d. *anaplasrose*, *babésiose*, *virus de Powassan*). Dans le chapitre 2, la prévalence de 15% d'*A. phagocytophilum* chez les tiques infestant les cerfs soulève la question d'émergence de d'autres agents transmis par les tiques et particulièrement par *I. scapularis*. La détection de ces agents pathogènes via une surveillance active sera requise pour mieux caractériser ces maladies et leur impact sur la santé humaine ou la santé animale au Canada.

La présence d'agents pathogènes tels qu'*A. phagocytophilum*, *Babesia microti*, *Borrelia miyamotoi* et le virus de l'encéphalite de Powassan sont rapportés dans le Nord-Est des États-Unis (Katavolos et al. 1998, Hinten et al. 2008). Dans ces états, la prévalence de co-infections par ces agents pathogènes est élevée dans les régions endémiques pour la maladie de Lyme (Swanson et al. 2006).

Aux États-Unis, il y a eu une hausse de 50% du nombre de cas humains déclarés d'anaplasmose entre 2010 et 2011 (1761 à 2,575 cas). En 2012, 2187 cas ont été rapportés (MMWR 2013). Il y a eu 940 cas déclarés de babésiose en 2012. Également, plus d'une dizaine de cas d'infection par le virus de Powassan ont été rapportés en 2012. Une étude expérimentale suggère que les souris peuvent acquérir le virus de l'encéphalite de Powassan dans les quinze premières minutes d'attachement de la tique (Ebel et al. 2004). Ceci suggère des différences dans le processus de transmission des maladies bactériennes et virales.

ii) Prévention

L'expansion rapide et anticipée du complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi* suppose une augmentation du risque d'exposition chez l'Homme et les animaux domestiques. La mise en place d'un plan de communication sur les agents infectieux transmis par la tique *I. scapularis* semble donc primordiale.

Dans le premier chapitre, la caractérisation de l'activité saisonnière de chaque stade de la tique *I. scapularis* a une implication directe sur la santé publique vétérinaire. Plus particulièrement, la nymphe, active au printemps, est le stade le plus souvent impliqué dans la transmission de la maladie de Lyme à l'Homme (Piesman and Dolan 2002). Au Québec, entre 2008 et 2012, 23 cas de la maladie de Lyme acquis en Montérégie ont été rapportés. Si on considère la date de début de l'apparition des symptômes (de 3 à 30 jours suivant la transmission de l'infection), on constate que 18/23 cas ont été acquis dans les mois d'avril à août (MSSS 2013). Les nymphes, plus difficiles à détecter, et la saison d'activité (vêtements courts au printemps et à l'été) pourraient expliquer cette saisonnalité des cas. Des efforts d'éducation par les autorités de santé publique pourraient cibler la reconnaissance de la nymphe par le public et ce, particulièrement au printemps.

Par ailleurs, l'acquisition de connaissances sur le comportement à risque des usagers de la forêt pourrait aider à identifier et cibler les obstacles à l'adoption de mesure de protection personnelle afin de limiter l'incidence de la maladie de Lyme. En effet, des facteurs compositionnels (caractéristiques propres à l'individu) peuvent intervenir (Méha et al. 2012). Par exemple, les facteurs socio-économiques (ex. : habitat, urbanisation, modes de vie, emploi, chômage), les modèles de comportement individuel (ex. : psychologie, style de vie) déterminés par des facteurs socioculturels (ex. : religions, croyances, tradition) et des caractéristiques personnelles (ex. : âge, sexe, génétique, physiologie), les systèmes de santé (ex. : prévention, accès aux soins) pourraient aussi influencer l'incidence de la maladie de Lyme et donc notre capacité à prédire le risque (Méha et al. 2012). L'étude des facteurs environnementaux contextuels et compositionnels via l'analyse de données environnementales et épidémiologiques serait pertinente, telle que suggéré par Eisen (2012).

iii) Contrôle

Certaines stratégies de contrôle seraient envisageables selon nos résultats. Dans des études subséquentes, il serait intéressant de déterminer quantitativement les effets d'interventions axées sur les tiques et les hôtes de la tique et/ou de l'agent *B. burgorferi*.

La vaccination des souris *Peromyscus* afin de réduire le nombre de tiques infectées (Tsao et al. 2004) pourrait être envisageable. De la même façon, certaines interventions visant à réduire l'infestation des rongeurs et des cerfs par les tiques *I. scapularis* pourraient être d'intérêt dans des régions fortement endémiques pour la maladie de Lyme. Par exemple, une diminution de la charge d'infestation des cerfs serait possible via la mise en place de stations de traitement acaricide dans les zones endémiques ciblées.

De plus, le contrôle du risque entomologique ou épidémiologique pourrait passer par des mesures à long terme visant à favoriser la biodiversité (ex. : diversité de l'habitat). Présentement, le couvert forestier est estimé à moins de 20 à 30 % dans les parcs du Mont St-Hilaire et du Mont St-Bruno ainsi que dans leurs environs (Auzel et al. 2012). Ainsi, le maintien d'un seuil minimal de couvert forestier ou de corridors de connexion pourrait être concevable dans la gestion du paysage de zone endémique pour la maladie de Lyme.

Conclusions

Ce projet de recherche a permis d'explorer et d'identifier des facteurs environnementaux biotiques et abiotiques influençant l'établissement du complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi* dans le Sud-Ouest du Québec. Ces différents facteurs environnementaux pourraient être utilisés à titre d'indicateurs environnementaux du risque de la maladie de Lyme au Québec et possiblement ailleurs au Canada.

Un résumé des principales conclusions est présenté ci-dessous :

- *I. scapularis* est établie dans le Sud-Ouest du Québec.
- L'établissement du complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi* se caractérise par une faible densité de tiques et une faible prévalence de *B. burgdorferi* chez les tiques et les hôtes.
- La ségrégation des stades immature d'*I. scapularis* sur les différentes espèces d'hôtes peut avoir une forte influence négative sur l'établissement de *B. burgdorferi*, dans un stade précoce d'établissement des populations d'*I. scapularis*.
- Les souris et les cerfs mâles adultes sont des hôtes importants pour les tiques immatures et adultes, respectivement, et ceci suggère la pertinence de la règle 20-80 (patron d'infestation d'*I. scapularis*) en Amérique du Nord.
- L'activité saisonnière et les associations tiques-hôtes étaient similaires à celle trouvée dans d'autres études dans le Nord-Est et Midwest de l'Amérique du Nord. Les méthodes de surveillance standard pendant les mois de mai à octobre sont adéquates pour détecter les risques environnementaux de la maladie de Lyme.
- Les cerfs sont des sentinelles efficaces pour détecter *A. phagocytophilum*, mais semblent inefficaces pour détecter les zones nouvellement endémiques pour le complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi*.
- L'étude a fourni des preuves empiriques à l'appui d'une amplification de la transmission du parasite (*I. scapularis*) avec l'augmentation de la richesse de la communauté d'hôtes. Mais

l'augmentation de la biodiversité au niveau de la communauté entière (diversité de l'habitat) pourrait en effet réduire l'établissement d'*I. scapularis* et par conséquent l'émergence des agents pathogènes transmis par *I. scapularis*.

- L'influence des oiseaux migrateurs dans la dispersion des tiques *I. scapularis* et l'agent pathogène *B. burgdorferi* était importante dans la phase initiale d'établissement du complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi*.
- La thèse a fourni des preuves empiriques pour valider le rôle de facteurs environnementaux étant reconnus importants au maintien du complexe *I. scapularis*-*B. burgdorferi* et sont présentés ci-dessous :
 - La température et les précipitations influencent la survie, l'activité et le développement de la tique *I. scapularis* et donc son établissement.
 - Les caractéristiques du sol telles que l'épaisseur de la litière, le relief et le drainage ont un effet sur la survie et donc son établissement.
- Les prochaines étapes à franchir dans la recherche sur les agents infectieux transmis par la tique *I. scapularis* incluent le développement d'études transversales et longitudinales via une surveillance active sur des sites et des sites sentinelles cibles. L'acquisition de ces données permettra de documenter l'établissement, l'endémicité, l'émergence et l'expansion de la tique et des agents pathogènes. Les effets des facteurs environnementaux et des processus écologiques devraient être ré-évalués selon le stade d'établissement. L'identification de d'autres maladies vectorielles et leurs impacts sur la santé publique vétérinaire devrait être considéré par les autorités de la santé publique.

Bibliographie

Health Canada. 1991. Consensus conference on Lyme disease. *Can J Infect Dis* 2: 49-54.

Adler, G. H., S. R. Telford, M. L. Wilson, and A. Spielman. 1992. Vegetation structure influences the burden of immature *Ixodes dammini* on its main host, *Peromyscus leucopus*. *Parasitology* 105: 105-110.

Aguero-Rosenfeld, M. E., G. Wang, I. Schwartz, and G. P. Wormser. 2005. Diagnosis of lyme borreliosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 18: 484-509.

Allan, B. F., F. Keesing, and R. S. Ostfeld. 2003. Effect of forest fragmentation on Lyme disease risk. *Conserv. Biol.*: 267-272.

Altizer, S., R. S. Ostfeld, P. T. Johnson, S. Kutz, and C. D. Harvell. 2013. Climate change and infectious diseases: from evidence to a predictive framework. *Science* 341: 514-519.

Amat-Roze, J.-M., and G. Rémy. 1983. Paysage épidémiologique du paludisme dans l'espace Ivoir-Voltaïque, pp. 313, De l'épidémiologie à la géographie humaine, Travaux et documents de géographie tropicale, No.48, ACCT/CEGET, Paris.

Amerasinghe, F. P., N. L. Breisch, K. Neidhardt, B. Pagac, and T. W. Scott. 1993. Increasing density and *Borrelia burgdorferi* infection of deer-infesting *Ixodes dammini* (Acari, Ixodidae) in Maryland. *J. Med. Entomol.* 30: 858-864.

Anderson, J. F. 1988. Mammalian and avian reservoirs for *Borrelia burgdorferi*. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 539: 180-191.

- Anderson, J. F. 1989. Epizootiology of *Borrelia* in *Ixodes* tick vectors and reservoir hosts. *Rev. Infect. Dis.* 11: S1451-S1459.
- Anderson, J. F. 2002. The natural history of ticks. *Med. Clin. North Am.* 86.
- Anderson, J. F., and L. A. Magnarelli. 2008. Biology of ticks. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 22: 195-215.
- Anderson, J. F., P. H. Duray, and L. A. Magnarelli. 1990. *Borrelia burgdorferi* and *Ixodes dammini* prevalent in the greater Philadelphia area. *J. Infect. Dis.* 161: 811-812.
- Anderson, J. F., R. C. Johnson, L. A. Magnarelli, and F. W. Hyde. 1986. Involvement of birds in the epidemiology of the Lyme disease agent *Borrelia burgdorferi*. *Infect. Immun.* 51: 394-396.
- Andreou, D., K. D. Arkush, J. F. Guegan, and R. E. Gozlan. 2012. Introduced pathogens and native freshwater biodiversity: a case study of *Sphaerothecum destruens*. *PLoS One* 7: e36998.
- Angelini, P., A. C. Finarelli, G. Silvi, B. M. Borrini, G. Frasca, A. Mattivi, E. Massimiliani, C. Po, R. Angelini, C. Venturelli, and P. Macini. 2008. Chikungunya emergency in Emilia Romagna: learning through experience. *Epidemiologia & Prevenzione* 32: 258-263.
- Anguita, J., N. Ramamoorthi, J. W. R. Hovius, S. Das, V. Thomas, R. Persinski, D. Conze, P. W. Askenase, M. Rincon, F. S. Kantor, and E. Fikrig. 2002. Salp15, an *Ixodes scapularis* salivary protein, inhibits CD4(+) T cell activation. *Immunity* 16: 849-859.
- American Academy of Pediatrics Pediatrics. 2000. Committee on infectious diseases. 105: 142-147.
- Artsob, H. 2010. NCCID Purple Paper. Canada: National Collaborating Centre for Infectious Diseases 17.

- Artsob, H., M. Garvie, R. J. Cawthorn, B. Horney, R. Maloney, D. Dick, and S. Mcburney. 1992. Isolation of the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*, from *Ixodes dammini* (Acari, Ixodidae) collected on Prince-Edward Island, Canada. *J. Med. Entomol.* 29: 1063-1066.
- Auzel, P., H. Gaonac'h, F. Poisson, R. Siron, S. Calme, and M. Bélanger. 2012. Impacts of climate change on the biodiversity of Quebec: literature review summary. CSBQ, MDDEP, Ouranos. 29 p.
- Azfelius, A. 1921. *Erythema chronicum migrans*. *Acta Derm. Venereol* 2.
- Bacon, R. M., K. J. Kugeler, and P. S. Mead. 2008. Surveillance for Lyme disease, United States 1992-2006. *MMWR* 57: 1-9.
- Balmelli, T., and J. C. Piffaretti. 1995. Association between different clinical manifestations of Lyme disease and different species of *Borrelia burgdorferi sensu lato*. *Res. Microbiol.* 146: 329-340.
- Banerjee, S. 1995. Update on the status of Lyme borreliosis in British-Columbia, Canada. *Clin. Infect. Dis.* 21: 704-704.
- Banerjee, S. N., M. Banerjee, K. Fernando, J. D. Scott, R. Mann, and M. G. Morshed. 2000. Presence of spirochete causing Lyme disease, *Borrelia burgdorferi*, in the blacklegged tick, *Ixodes scapularis*, in southern Ontario. *Can. Med. Assoc. J.* 162: 1567-1569.
- Baranton, G., M. Assous, and D. Postic. 1992. 3 bacterial genospecies associated to Lyme borreliosis - clinical and diagnostic implications. *Bull. Acad. Natl. Med.* 176: 1075-1086.
- Barbour, A. G., and S. F. Hayes. 1986. Biology of *Borrelia* species. *Microbiol. Rev.* 50: 381-400.

- Barbour, A. G., R. A. Heiland, and T. R. Howe. 1985. Heterogeneity of major proteins in Lyme disease *Borreliae* - a molecular analysis of North-American and European isolates. *J. Infect. Dis.* 152: 478-484.
- Battaly, G. R., and D. Fish. 1993. Relative importance of bird species as hosts for immature *Ixodes dammini* (Acari, Ixodidae) in a suburban residential landscape of southern New York state. *J. Med. Entomol.* 30: 740-747.
- Begon, M. 2008. Effects of host diversity on disease dynamics, pp. 12-29. In R. S. Ostfeld, Keesing, F. & Eviner, V.T. (ed.), *Infectious disease ecology: Effects of ecosystems on disease and of disease on ecosystems* Princeton University Press, Princeton, New Jersey, USA.
- Benach, J. L., E. M. Bosler, J. P. Hanrahan, J. L. Coleman, G. S. Habicht, T. F. Bast, D. J. Cameron, J. L. Ziegler, A. G. Barbour, W. Burgdorfer, R. Edelman, and R. A. Kaslow. 1983. Spirochetes isolated from the blood of 2 patients with Lyme disease. *N. Engl. J. Med.* 308: 740-742.
- Bertrand, M. R., and M. L. Wilson. 1996. Microclimate dependent survival of unfed adult *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in nature: Life cycle and study design implications. *J. Med. Entomol.* 33: 619-627.
- Blancou, J., B. B. Chomel, A. Belotto, and F. X. Meslin. 2005. Emerging or re-emerging bacterial zoonoses: factors of emergence, surveillance and control. *Vet. Res.* 36: 507-522.
- Bollegraaf, E. 1988. Lyme disease in Canada. *Can. Med. Assoc. J.* 139: 233-234.
- Bonilauri, P., R. Bellini, M. Calzolari, R. Angefni, L. Venturi, F. Fallacara, P. Cordioli, P. Angelini, C. Venturolli, G. Merialdi, and M. Dottori. 2008. Chikungunya virus in *Aedes albopictus*, Italy. *Emerg. Infect. Dis.* 14: 852-854.

- Bouchard, C., G. Beauchamp, P. A. Leighton, R. Lindsay, D. Belanger, and N. H. Ogden. 2013b. Does high biodiversity reduce the risk of Lyme disease invasion? *Parasit Vectors* 6: 195.
- Bouchard, C., G. Beauchamp, S. Nguon, L. Trudel, F. Milord, L. R. Lindsay, D. Belanger, 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. 2013a. 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.
- Bowman, A. S., A. Ball, and J. R. Sauer. 2008. Tick salivary glands : the physiology of tick balance and their role in pathogen trafficking and transmission, pp. 73-91. In A. S. Bowman, Nuttall, P. (ed.), *Ticks. Biology, Disease and Control*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Bown, K. J., M. Begon, M. Bennett, Z. Woldehiwet, and N. H. Ogden. 2003. Seasonal dynamics of *Anaplasma phagocytophila* in a rodent-tick (*Ixodes trianguliceps*) system, United Kingdom. *Emerg. Infect. Dis.* 9: 63-70.
- Branda, J. A., K. Linskey, Y. A. Kim, A. C. Steere, and M. J. Ferraro. 2011. Two-tiered antibody testing for Lyme disease with use of 2 enzyme immunoassays, a whole-cell sonicate enzyme immunoassay followed by a VlsE C6 peptide enzyme immunoassay. *Clin. Infect. Dis.* 53: 541-547.
- Brossard, M., and S. K. Wikel. 2008. Tick immunobiology, pp. 186-204. In A. S. Bowman, Nuttall, P. (ed.), *Ticks. Biology, Disease and Control*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

- Brown, E. L., R. M. Wooten, B. J. B. Johnson, R. V. Iozzo, A. Smith, M. C. Dolan, B. P. Guo, J. J. Weis, and M. Hook. 2001. Resistance to Lyme disease in decorin-deficient mice. *J. Clin. Invest.* 107: 845-852.
- Brownstein, J. S., D. K. Skelly, T. R. Holford, and D. Fish. 2005. Forest fragmentation predicts local scale heterogeneity of Lyme disease risk. *Oecologia* 146: 469-475.
- Brunner, J. L., and R. S. Ostfeld. 2008. Multiple causes of variable tick burdens on small-mammal hosts. *Ecology* 89: 2259-2272.
- Bunnell, J. E., S. D. Price, A. Das, T. M. Shields, and G. E. Glass. 2003. Geographic Information Systems and spatial analysis of adult *Ixodes scapularis* (Acari : Ixodidae) in the Middle Atlantic region of the USA. *J. Med. Entomol.* 40: 570-576.
- Burgdorfer, W. 1989. *Borrelia burgdorferi* - Its relationship to tick vectors. *Lyme Borreliosis* 18: 8-13.
- Burgdorfer, W., A. G. Barbour, S. F. Hayes, J. L. Benach, E. Grunwaldt, and J. P. Davis. 1982. Lyme disease - a tick-borne spirochetosis. *Science* 216: 1317-1319.
- Carlson, J. C., L. A. Dyer, F. X. Omlin, and J. C. Beier. 2009. Diversity cascades and malaria vectors. *J. Med. Entomol.* 46: 460-464.
- Casjens, S. 2000. *Borrelia* genomes in the year 2000. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 2: 401-410.
- Cortinas, M. 2007. Investigations of white-tailed deer infestation by *Ixodes scapularis* on the Illinois River, USA. PhD dissertation, University of Illinois Champaign-Urbana, IL.

- Cortinas, M. R., and U. Kitron. 2006. County-level surveillance of white-tailed deer infestation by *Ixodes scapularis* and *Dermacentor albipictus* (Acari : Ixodidae) along the Illinois River. *J. Med. Entomol.* 43: 810-819.
- Costero, A. 1990. Identification of the Lyme disease vector in Canada. *Can Dis Wkly Rep.* 16(30): 142-147.
- Curtis, S. 2004. *Health and Inequality*, London, Sage Publications Ltd. In S. P. Ltd (ed.), London, UK.
- Daniels, T. J., and D. Fish. 1990. Spatial distribution and dispersal of unfed larval *Ixodes dammini* (Acari, Ixodidae) in Southern New York. *Environ. Entomol.* 19: 1029-1033.
- Daniels, T. J., and D. Fish. 1995. Effect of deer exclusion on the abundance of immature *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) parasitizing small and medium-sized mammals. *J. Med. Entomol.* 32: 5-11.
- Daniels, T. J., D. Fish, and R. C. Falco. 1989. Seasonal activity and survival of adult *Ixodes dammini* (Acari, Ixodidae) in southern New York state. *J. Med. Entomol.* 26: 610-614.
- Daszak, P., A. A. Cunningham, and A. D. Hyatt. 2001. Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. *Acta Trop.* 78: 103-116.
- Diaz, S., J. Fargione, F. S. Chapin, 3rd, and D. Tilman. 2006. Biodiversity loss threatens human well-being. *PLoS Biol.* 4: e277.
- Dister, S. W., D. Fish, S. M. Bros, D. H. Frank, and B. L. Wood. 1997. Landscape characterization of peridomestic risk for Lyme disease using satellite imagery. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 57: 687-692.

- Diuk-Wasser, M. A., A. G. Gatewood, M. R. Cortinas, S. Yaremych-Hamer, J. Tsao, U. Kitron, G. Hickling, J. S. Brownstein, E. Walker, J. Piesman, and D. Fish. 2006. Spatiotemporal patterns of host-seeking *Ixodes scapularis* nymphs (Acari, Ixodidae) in the United States. *J. Med. Entomol.* 43: 166-176.
- Dobson, A. 2004. Population dynamics of pathogens with multiple host species. *Am. Nat.* 164 Suppl 5: S64-78.
- Dobson, A., I. Cattadori, R. D. Holt, R. S. Ostfeld, F. Keesing, K. Krichbaum, J. R. Rohr, S. E. Perkins, and P. J. Hudson. 2006. Sacred cows and sympathetic squirrels: the importance of biological diversity to human health. *PLoS Med* 3: e231.
- 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.
- Duffy, D. C., D. D. Clark, S. R. Campbell, S. Gurney, R. Perello, and N. Simon. 1994. Landscape patterns of abundance of *Ixodes scapularis* (Acari, Ixodidae) on Shelter Island, New York. *J. Med. Entomol.* 31: 875-879.
- Ebel, G. D., and L. D. Kramer. 2004. Short report: duration of tick attachment required for transmission of Powassan virus by deer ticks. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 71: 268-271.
- Eisen, R. J., L. Eisen, and R. S. Lane. 2006. Predicting density of *Ixodes pacificus* nymphs in dense woodlands in Mendocino County, California, based on geographic information systems and remote sensing versus field-derived data. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 74: 632-640.
- 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.

- Estrada-Pena, A. 2002. Increasing habitat suitability in the United States for the tick that transmits Lyme disease: A remote sensing approach. *Environ. Health Perspect.* 110: 635-640.
- Estrada-Pena, A. 2008. Climate, niche, ticks, and models: what they are and how we should interpret them. *Parasitol. Res.* 103 Suppl 1: S87-95.
- Feder, H. M., Jr., B. J. Johnson, S. O'Connell, E. D. Shapiro, A. C. Steere, G. P. Wormser, G. Ad Hoc International Lyme Disease, W. A. Agger, H. Artsob, P. Auwaerter, J. S. Dumler, J. S. Bakken, L. K. Bockenstedt, J. Green, R. J. Dattwyler, J. Munoz, R. B. Nadelman, I. Schwartz, T. Draper, E. McSweeney, J. J. Halperin, M. S. Klempner, P. J. Krause, P. Mead, M. Morshed, R. Porwancher, J. D. Radolf, R. P. Smith, Jr., S. Sood, A. Weinstein, S. J. Wong, and L. Zemel. 2007. A critical appraisal of "chronic Lyme disease". *N. Engl. J. Med.* 357: 1422-1430.
- Frank, D. H., D. Fish, and F. H. Moy. 1998. Landscape features associated with Lyme disease risk in a suburban residential environment. *Landscape Ecol.* 13: 27-36.
- Fraser, C. M., S. Casjens, W. M. Huang, G. G. Sutton, R. Clayton, R. Lathigra, O. White, K. A. Ketchum, R. Dodson, E. K. Hickey, M. Gwinn, B. Dougherty, J. F. Tomb, R. D. Fleischmann, D. Richardson, J. Peterson, A. R. Kerlavage, J. Quackenbush, S. Salzberg, M. Hanson, R. vanVugt, N. Palmer, M. D. Adams, J. Gocayne, J. Weidman, T. Utterback, L. Wathley, L. McDonald, P. Artiach, C. Bowman, S. Garland, C. Fujii, M. D. Cotton, K. Horst, K. Roberts, B. Hatch, H. O. Smith, and J. C. Venter. 1997. Genomic sequence of a Lyme disease spirochaete, *Borrelia burgdorferi*. *Nature* 390: 580-586.
- Gale, P., B. Stephenson, A. Brouwer, M. Martinez, A. de la Torre, J. Bosch, M. Foley-Fisher, P. Bonilauri, A. Lindstrom, R. G. Ulrich, C. J. de Vos, M. Scremin, Z. Liu, L. Kelly, and M. J.

- Munoz. 2012. Impact of climate change on risk of incursion of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in livestock in Europe through migratory birds. *J. Appl. Microbiol.* 112: 246-257.
- Garg, R., I. J. Juncadella, N. Ramamoorthi, Ashish, S. K. Ananthanarayanan, V. Thomas, M. Rincon, J. K. Krueger, E. Fikrig, C. M. Yengo, and J. Anguita. 2006. Cutting edge: CD4 is the receptor for the tick saliva immunosuppressor, Salp15. *J. Immunol.* 177: 6579-6583.
- Garin, and Bujadoux. 1922. Paralyse par les tiques. *Le journal de Médecine de Lyon*: 765-767.
- Gassner, F., A. J. van Vliet, S. L. Burgers, F. Jacobs, P. Verbaarschot, E. K. Hovius, S. Mulder, N. O. Verhulst, L. S. van Overbeek, and W. Takken. 2011. Geographic and temporal variations in population dynamics of *Ixodes ricinus* and associated *Borrelia* infections in The Netherlands. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 11: 523-532.
- Gatewood, A. G., K. A. Liebman, G. Vourc'h, J. Bunikis, S. A. Hamer, R. Cortinas, F. Melton, P. Cislo, U. Kitron, J. Tsao, A. G. Barbour, D. Fish, and M. A. Diuk-Wasser. 2009. Climate and tick seasonality are predictors of *Borrelia burgdorferi* genotype distribution. *Appl. Environ. Microbiol.* 75: 2476-2483.
- Gern, L. 2008. *Borrelia burgdorferi sensu lato*, the agent of Lyme borreliosis: Life in the wilds. *Parasite-Journal de la société française de parasitologie* 15: 244-247.
- Gern, L., A. Estrada-Pena, F. Frandsen, J. S. Gray, T. G. T. Jaenson, F. Jongejan, O. Kahl, E. Korenberg, R. Mehl, and P. A. Nuttall. 1998. European reservoir hosts of *Borrelia burgdorferi sensu lato*. *Intl J Microbiol Virol Parasitol and Inf Dis* 287: 196-204.
- Giguère, M., and P. Gosselin. 2006. Maladies zoonotiques et à transmission vectorielle: examen des initiatives actuelles d'adaptation aux changements climatiques au Québec, Institut national de santé publique du Québec, Québec.

- Gill, J. S., R. C. Johnson, M. K. Sinclair, and A. R. Weisbrod. 1993. Prevalence of the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*, in deer ticks (*Ixodes dammini*) collected from white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) in Saint-Croix state-park, Minnesota. J. Wildl. Dis. 29: 64-72.
- Ginsberg, H. S., and C. P. Ewing. 1989. Habitat distribution of *Ixodes dammini* (Acari, Ixodidae) and Lyme disease spirochetes on Fire Island, New York. J. Med. Entomol. 26: 183-189.
- Ginsberg, H. S., and E. Zhioua. 1999. Influence of deer abundance on the abundance of questing adult *Ixodes scapularis* (Acari : Ixodidae). J. Med. Entomol. 36: 376-381.
- 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.
- Glaser, A. 2004. West Nile virus and North America: An unfolding story. Rev Sci Tech OIE 23: 557-568.
- Glass, G. E., F. P. Amerasinghe, J. M. Morgan, 3rd, and T. W. Scott. 1994. Predicting *Ixodes scapularis* abundance on white-tailed deer using geographic information systems. Am. J. Trop. Med. Hyg. 51: 538-544.
- Goddard, J. 1992. Ecological studies of adult *Ixodes scapularis* in central Mississippi - questing activity in relation to time of year, vegetation type, and meteorological conditions. J. Med. Entomol. 29: 501-506.
- Godsey, M. S., T. E. Amundson, E. C. Burgess, W. Schell, J. P. Davis, R. Kaslow, and R. Edelman. 1987. Lyme disease ecology in Wisconsin - distribution and host preferences of *Ixodes dammini*, and prevalence of antibody to *Borrelia burgdorferi* in small mammals. Am. J. Trop. Med. Hyg. 37: 180-187.

- Gray, J. S. 2002. Biology of *Ixodes* species ticks in relation to tick-borne zoonoses. *Wien. Klin. Wochenschr.* 114: 473-478.
- Grimm, D., C. H. Eggers, M. J. Caimano, K. Tilly, P. E. Stewart, A. F. Elias, J. D. Radolf, and P. A. Rosa. 2004a. Experimental assessment of the roles of linear plasmids 1p25 and 1p28-1 of *Borrelia burgdorferi* throughout the infectious cycle. *Infect. Immun.* 72: 5938-5946.
- Grimm, D., K. Tilly, R. Byram, P. E. Stewart, J. G. Krum, D. M. Bueschel, T. G. Schwan, P. F. Policastro, A. F. Elias, and P. A. Rosa. 2004b. Outer-surface protein C of the Lyme disease spirochete: A protein induced in ticks for infection of mammals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101: 3142-3147.
- Guerra, M., E. Walker, C. Jones, S. Paskewitz, M. R. Cortinas, A. Stancil, L. Beck, M. Bobo, and U. Kitron. 2002. Predicting the risk of Lyme disease: habitat suitability for *Ixodes scapularis* in the north central United States. *Emerg. Infect. Dis.* 8: 289-297.
- Halperin, J. J. 2011. Erythema Migrans. *Advances in molecular and cellular microbiology*, vol.20, pp. 154-179. In J. J. Halperin (ed.), *Lyme disease: an evidence-based approach*. CAB International, Cambridge, UK.
- Hamer, S. A., J. I. Tsao, E. D. Walker, and G. J. Hickling. 2010. Invasion of the Lyme Disease vector *Ixodes scapularis*: Implications for *Borrelia burgdorferi* endemicity. *EcoHealth* 7: 47-63.
- Hamer, S. A., P. L. Roy, G. J. Hickling, E. D. Walker, E. S. Foster, C. C. Barber, and J. I. Tsao. 2007. Zoonotic pathogens in *Ixodes scapularis*, Michigan. *Emerg. Infect. Dis.* 13: 1131-1133.
- Handschumacher, P., and J.-P. Hervouët. 2004. Des systèmes pathogènes à la santé publique : une nouvelle dimension pour la géographie de la santé tropicale. *Autrepart* 29: 47-63.

- Hanincova, K., K. Kurtenbach, M. Diuk-Wasser, B. Brei, and D. Fish. 2006. Epidemic spread of Lyme borreliosis, northeastern United States. *Emerg. Infect. Dis.* 12: 604-611.
- Hanincova, 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.
- Hellwage, J., T. Meri, T. Heikkila, A. Alitalo, J. Panelius, P. Lahdenne, I. J. T. Seppala, and S. Meri. 2001. The complement regulator factor H binds to the surface protein OspE of *Borrelia burgdorferi*. *J. Biol. Chem.* 276: 8427-8435.
- Hinten, S. R., G. A. Beckett, K. F. Gensheimer, E. Pritchard, T. M. Courtney, S. D. Sears, J. M. Woytowicz, D. G. Preston, R. P. Smith, Jr., P. W. Rand, E. H. Lacombe, M. S. Holman, C. B. Lubelczyk, P. T. Kelso, A. P. Beelen, M. G. Stobierski, M. J. Sotir, S. Wong, G. Ebel, O. Kosoy, J. Piesman, G. L. Campbell, and A. A. Marfin. 2008. Increased recognition of Powassan encephalitis in the United States, 1999-2005. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 8: 733-740.
- Hovius, J. W. R., A. P. van Dam, and E. Fikrig. 2007. Tick-host-pathogen interactions in Lyme borreliosis. *Trends Parasitol.* 23: 434-438.
- Humair, P. F., and L. Gern. 1998. Relationship between *Borrelia burgdorferi sensu lato* species, red squirrels (*Sciurus vulgaris*) and *Ixodes ricinus* in enzootic areas in Switzerland. *Acta Trop.* 69: 213-227.
- Humair, P. F., and L. Gern. 2000. The wild hidden face of Lyme borreliosis in Europe. *Microb. Infect.* 2: 915-922.

- Jaenson, T. G. T., and L. Talleklint. 1992. Incompetence of roe deer as reservoirs of the Lyme borreliosis spirochete. *J. Med. Entomol.* 29: 813-817.
- Johnson, R. C., G. P. Schmid, F. W. Hyde, A. G. Steigerwalt, and D. J. Brenner. 1984. *Borrelia burgdorferi* Sp-Nov - Etiologic agent of Lyme disease. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 34: 496-497.
- Jones, C. J., and U. D. Kitron. 2000. Populations of *Ixodes scapularis* (Acari : Ixodidae) are modulated by drought at a Lyme disease focus in Illinois. *J. Med. Entomol.* 37: 408-415.
- Jones, K. E., N. G. Patel, M. A. Levy, A. Storeygard, D. Balk, J. L. Gittleman, and P. Daszak. 2008. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature* 451: 990-994.
- Katavolos, P., P. M. Armstrong, J. E. Dawson, and S. R. Telford, 3rd. 1998. Duration of tick attachment required for transmission of granulocytic ehrlichiosis. *J. Infect. Dis.* 177: 1422-1425.
- Keefe, L. M., M. H. Moro, J. Vinasco, C. Hill, C. C. Wu, and E. A. Raizman. 2009. The use of harvested white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) and geographic information system (GIS) methods to characterize distribution and locate spatial clusters of *Borrelia burgdorferi* and its vector *Ixodes scapularis* in Indiana. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 9: 671-680.
- Keesing, F., R. D. Holt, and R. S. Ostfeld. 2006. Effects of species diversity on disease risk. *Ecol. Lett.* 9: 485-498.
- Keesing, F., J. Brunner, S. Duerr, M. Killilea, K. Logiudice, K. Schmidt, H. Vuong, and R. S. Ostfeld. 2009. Hosts as ecological traps for the vector of Lyme disease. *Proc Biol Sci* 276: 3911-3919.

- Keesing, F., L. K. Belden, P. Daszak, A. Dobson, C. D. Harvell, R. D. Holt, P. Hudson, A. Jolles, K. E. Jones, C. E. Mitchell, S. S. Myers, T. Bogich, and R. S. Ostfeld. 2010. Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases. *Nature* 468: 647-652.
- Killilea, M. E., A. Swei, R. S. Lane, C. J. Briggs, and R. S. Ostfeld. 2008. Spatial dynamics of Lyme disease: a review. *EcoHealth* 5: 167-195.
- Kimsey, R. B., and A. Spielman. 1990. Motility of Lyme disease spirochetes in fluids as viscous as the extracellular-matrix. *J. Infect. Dis.* 162: 1205-1208.
- Kiszewski, A. E., F. R. Matuschka, and A. Spielman. 2001. Mating strategies and spermiogenesis in *Ixodid* ticks. *Annu. Rev. Entomol.* 46: 167-182.
- Kitron, U. 1998. Landscape ecology and epidemiology of vector-borne diseases: Tools for spatial analysis. *J. Med. Entomol.* 35: 435-445.
- Kitron, U., J. K. Bouseman, and C. J. Jones. 1991. Use of the Arc Info Gis to study the distribution of Lyme disease ticks in an Illinois county. *Prev. Vet. Med.* 11: 243-248.
- Kitron, U., C. J. Jones, J. K. Bouseman, J. A. Nelson, and D. L. Baumgartner. 1992. Spatial analysis of the distribution of *Ixodes dammini* (Acari, Ixodidae) on white-tailed deer in Ogle County, Illinois. *J. Med. Entomol.* 29: 259-266.
- Koffi, J. K., P. A. Leighton, Y. Pelcat, L. Trudel, L. R. Lindsay, F. Milord, and N. H. Ogden. 2012. Passive surveillance for *I. scapularis* ticks: Enhanced analysis for early detection of emerging Lyme disease risk. *J. Med. Entomol.* 49: 400-409.
- Kraiczy, P., C. Skerka, V. Brade, and P. F. Zipfel. 2001. Further characterization of complement regulator-acquiring surface proteins of *Borrelia burgdorferi*. *Infect. Immun.* 69: 7800-7809.

- Krinsky, W. L. 1979. Development of the tick *Ixodes dammini* (Acari, Ixodidae) in the laboratory. J. Med. Entomol. 16: 354-355.
- Kurtenbach, K., H. S. Sewell, N. H. Ogden, S. E. Randolph, and P. A. Nuttall. 1998. Serum complement sensitivity as a key factor in Lyme disease ecology. Infect. Immun. 66: 1248-1251.
- Kurtenbach, K., K. Hanincova, J. I. Tsao, G. Margos, D. Fish, and N. H. Ogden. 2006a. Fundamental processes in the evolutionary ecology of Lyme borreliosis. Nature Reviews Microbiology 4: 660-669.
- Kurtenbach, K., K. Hanincova, J. I. Tsao, G. Margos, D. Fish, and N. H. Ogden. 2006b. Fundamental processes in the evolutionary ecology of Lyme borreliosis. Nat. Rev. Microbiol. 4: 660-669.
- Kurtenbach, K., S. De Michelis, S. Etti, S. M. Schafer, H. S. Sewell, V. Brade, and P. Kraiczy. 2002. Host association of *Borrelia burgdorferi sensu lato* - the key role of host complement. Trends Microbiol. 10: 74-79.
- Lacombe, E., P. W. Rand, and R. P. Smith. 1993. Disparity of *Borrelia burgdorferi* infection rates of adult *Ixodes dammini* on deer and vegetation. J. Infect. Dis. 167: 1236-1238.
- Lane, R. S., and J. E. Loye. 1991. Lyme disease in California - Interrelationship of *Ixodid* ticks (Acari), rodents, and *Borrelia burgdorferi*. J. Med. Entomol. 28: 719-725.
- Lane, R. S., J. Mun, R. J. Eisen, and L. Eisen. 2005. Western gray squirrel (*Rodentia* : *Sciuridae*): A primary reservoir host of *Borrelia burgdorferi* in Californian oak woodlands? J. Med. Entomol. 42: 388-396.

- LaRocca, T. J., and J. L. Benach. 2008. The important and diverse roles of antibodies in the host response to *Borrelia* infections. *Specialization and Complementation of Humoral Immune Responses to Infection* 319: 63-103.
- Lastavica, C. C., M. L. Wilson, V. P. Berardi, A. Spielman, and R. D. Deblinger. 1989. Rapid emergence of a focal epidemic of Lyme disease in coastal Massachusetts. *N. Engl. J. Med.* 320: 133-137.
- Lee, H. T., J. Bakowsky, J. Riley, J. Bowles, M. Puddister, P. Uhlig, and S. McMurray. 1988. Ecological land classification for southern Ontario: First approximation and its application. *In* S. S. S. Ontario Ministry of Natural Resources, Science Development and Transfer Branch. [ed.].
- 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.
- Li, X. H., C. A. Peavey, and R. S. Lane. 2000. Density and spatial distribution of *Ixodes pacificus* (Acari : Ixodidae) in two recreational areas in north coastal California. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 62: 415-422.
- 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.
- Lindsay, L. R., S. W. Mathison, I. K. Barker, S. A. McEwen, and G. A. Surgeoner. 1999a. Abundance of *Ixodes scapularis* (Acari : Ixodidae) larvae and nymphs in relation to host density and habitat on Long Point, Ontario. *J. Med. Entomol.* 36: 243-254.

- Lindsay, L. R., I. K. Barker, G. A. Surgeoner, S. A. McEwen, L. A. Elliott, and J. Kolar. 1991. Apparent incompetence of *Dermacentor variabilis* (Acari, Ixodidae) and fleas (Insecta, Siphonaptera) as vectors of *Borrelia burgdorferi* in an *Ixodes dammini* endemic area of Ontario, Canada. *J. Med. Entomol.* 28: 750-753.
- Lindsay, L. R., I. K. Barker, G. A. Surgeoner, S. A. McEwen, T. J. Gillespie, and J. T. Robinson. 1995. Survival and development of *Ixodes scapularis* (Acari, Ixodidae) under various climatic conditions in Ontario, Canada. *J. Med. Entomol.* 32: 143-152.
- Lindsay, L. R., I. K. Barker, G. A. Surgeoner, S. A. McEwen, T. J. Gillespie, and E. M. Addison. 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: 189-199.
- Lindsay, L. R., S. W. Mathison, I. K. Barker, S. A. McEwen, T. J. Gillespie, and G. A. Surgeoner. 1999b. Microclimate and habitat in relation to *Ixodes scapularis* (Acari : Ixodidae) populations on Long Point, Ontario, Canada. *J. Med. Entomol.* 36: 255-262.
- 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. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 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.
- Loken, K. I., C. C. Wu, R. C. Johnson, and R. F. Bey. 1985. Isolation of the Lyme disease spirochete from mammals in Minnesota. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 179: 300-302.

- Lubelcyk, C. B., S. P. Elias, P. W. Rand, M. S. Holman, E. H. Lacombe, and S. R.P. 2004. Habitat association of *Ixodes scapularis* (Acari : Ixodidae) in Maine. *Environ. Entomol.* 33 (4): 900-906.
- Magnarelli, L. A., J. F. Anderson, and D. Fish. 1987. Trans-ovarial transmission of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes dammini* (Acari, Ixodidae). *J. Infect. Dis.* 156: 234-236.
- Magnarelli, L. A., K. C. Stafford, and V. C. Bladen. 1992. *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes dammini* (Acari, Ixodidae) feeding on birds in Lyme, Connecticut, USA. *Canadian Journal of Zoology- Revue Canadienne De Zoologie* 70: 2322-2325.
- Magnarelli, L. A., J. F. Anderson, and M. L. Cartter. 1993. Geographic distribution of white-tailed deer with ticks and antibodies to *Borrelia burgdorferi* in Connecticut. *Yale J. Biol. Med.* 66: 19-26.
- Magnarelli, L. A., J. F. Anderson, W. Burgdorfer, and W. A. Chappell. 1984. Parasitism by *Ixodes dammini* (Acari, Ixodidae) and antibodies to spirochetes in mammals at Lyme disease foci in Connecticut, USA. *J. Med. Entomol.* 21: 52-57.
- Magnarelli, L. A., A. Denicola, K. C. Stafford, and J. F. Anderson. 1995. *Borrelia burgdorferi* in an urban environment - white-tailed deer with infected ticks and antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 33: 541-544.
- Magnarelli, L. A., J. F. Anderson, C. S. Apperson, D. Fish, R. C. Johnson, and W. A. Chappell. 1986. Spirochetes in ticks and antibodies to *Borrelia burgdorferi* in white-tailed deer from Connecticut, New York State, and North Carolina. *J. Wildl. Dis.* 22: 178-188.
- March, D., and E. Susser. 2006. The eco- in eco-epidemiology. *Int. J. Epidemiol.* 35: 1379-1383.

- Marshall, S., E. Hayes, and D. Dennis. 2002. Lyme Disease - United States, 2000 (Reprinted form MMWR, vol 50, pg 29-31, 2002). *Jama-Journal of the American Medical Association* 287: 1259-1260.
- Massung, R. F., J. W. Courtney, S. L. Hiratzka, V. E. Pitzer, G. Smith, and R. L. Dryden. 2005. *Anaplasma phagocytophilum* in white-tailed deer. *Emerg. Infect. Dis.* 11: 1604-1606.
- Mather, T. N., M. L. Wilson, S. I. Moore, J. M. C. 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.
- Matuschka, F. R., M. Heiler, H. Eiffert, P. Fischer, H. Lotter, and A. Spielman. 1993. Diversionary role of hoofed game in the transmission of Lyme disease spirochetes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 48: 693-699.
- Méha, C., V. Godard, B. Moulin and H. Haddad. 2012. La borréliose de Lyme : un risque sanitaire émergent dans les forêts franciliennes ? Cybergeog : *European Journal of Geography* (en ligne).
- MMWR. 2013. Summary of notifiable diseases - United states, 2011. *Morb. Mortal. Weekly Rep.* 60 (53): 1-120.
- Morris, J. N. 1957. *Uses of Epidemiology*, pp. 96. E & S Livingstone, Edinburgh and London.
- Morshed, M. G., J. D. Scott, K. Fernando, L. Beati, D. F. Mazerolle, G. Geddes, and L. A. Durden. 2005. Migratory songbirds disperse ticks across Canada, and first isolation of the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*, from the avian tick, *Ixodes auritulus*. *J. Parasitol.* 91: 780-790.

- Morshed, M. G., J. D. Scott, K. Fernando, G. Geddes, A. McNabb, S. Mak, and L. A. Durden. 2006. Distribution and characterization of *Borrelia burgdorferi* isolates from *Ixodes scapularis* and presence in mammalian hosts in Ontario, Canada. *J. Med. Entomol.* 43: 762-773.
- MSSS. 2013. Surveillance de la maladie de Lyme au Québec - Bilan 2004 à 2012. *FlashVigie* 8: 1-2.
- Nakayama, Y., A. Spielman, and A. A. James. 1989. Protein synthesis induced by heat in an *Ixodes* tick. *Insect Biochemistry* 19: 731-736.
- Neelakanta, G., X. Li, U. Pal, X. Z. Liu, D. S. Beck, K. DePonte, D. Fish, F. S. Kantor, and E. Fikrig. 2007. Outer surface protein B is critical for *Borrelia burgdorferi* adherence and survival within *Ixodes* ticks. *PLoS Path.* 3: e33.
- Nupp, T. E., and R. K. Swihart. 1996. Effect of forest patch area on population attributes of white-footed mice (*Peromyscus leucopus*) in fragmented landscapes. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie* 74: 467-472.
- Nuttall, G., and C. Warburton. 1911. A monograph of the Ixodoidea. Part II, pp. 105–348. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Nuttall, P. A., and M. Labuda. 2003. Dynamics of infection in tick vectors and at the tick-host interface. *Flaviviruses: Pathogenesis and Immunity* 60: 233-272.
- Ogden, N. H., and J. I. Tsao. 2009. Biodiversity and Lyme disease: Dilution or amplification? *Epidemics* 1: 196-206.
- 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., H. Artsob, L. R. Lindsay, and P. N. Sockett. 2008a. Lyme disease: A zoonotic disease of increasing importance to Canadians. *Can. Fam. Physician* 54: 1381-1384.
- Ogden, N. H., L. R. Lindsay, M. Morshed, P. N. Sockett, and H. Artsob. 2009. The emergence of Lyme disease in Canada. *Can. Med. Assoc. J.* 180: 1221-1224.
- Ogden, N. H., M. Bigras-Poulin, K. Hanincova, A. Maarouf, C. J. O'Callaghan, and K. Kurtenbach. 2008b. 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.
- Ogden, N. H., M. Bigras-Poulin, J. O'Callaghan C, I. K. Barker, K. Kurtenbach, L. R. Lindsay, and D. F. Charron. 2007. Vector seasonality, host infection dynamics and fitness of pathogens transmitted by the tick *Ixodes scapularis*. *Parasitology* 134: 209-227.
- 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., C. Bouchard, K. Kurtenbach, G. Margos, L. R. Lindsay, L. Trudel, S. Nguon, and F. Milord. 2010. Active and passive surveillance and phylogenetic analysis of *Borrelia burgdorferi* elucidate the process of Lyme disease risk emergence in Canada. *Environ. Health Perspect.* 118: 909-914.
- 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.

- Ogden, N. H., G. Margos, D. M. Aanensen, M. A. Drebot, E. J. Feil, K. Hanincova, I. Schwartz, S. Tyler, and L. R. Lindsay. 2011. Investigation of genotypes of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes scapularis* ticks collected during surveillance in Canada. *Appl. Environ. Microbiol.* 77: 3244-3254.
- Ogden, N. H., L. Trudel, H. Artsob, I. K. Barker, G. Beauchamp, D. F. Charron, M. A. Drebot, T. D. Galloway, R. O'Handley, R. A. Thompson, and L. R. Lindsay. 2006a. *Ixodes scapularis* ticks collected by passive surveillance in Canada: Analysis of geographic distribution and infection with Lyme borreliosis agent *Borrelia burgdorferi*. *J. Med. Entomol.* 43: 600-609.
- Ogden, N. H., L. R. Lindsay, K. Hanincova, I. K. Barker, M. Bigras-Poulin, D. F. Charron, A. Heagy, C. M. Francis, C. J. O'Callaghan, I. Schwartz, and R. A. Thompson. 2008c. 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.
- Ogden, N. H., I. K. Barker, G. Beauchamp, S. Brazeau, D. F. Charron, A. Maarouf, M. G. Morshed, C. J. O'Callaghan, R. A. Thompson, D. Waltner-Toews, M. Waltner-Toews, and L. R. Lindsay. 2006b. Investigation of ground level and remote-sensed data for habitat classification and prediction of survival of *Ixodes scapularis* in habitats of southeastern Canada. *J. Med. Entomol.* 43: 403-414.
- Ogden, N. H., L. St-Onge, I. K. Barker, S. Brazeau, M. Bigras-Poulin, D. F. Charron, C. M. Francis, A. Heagy, L. R. Lindsay, A. Maarouf, P. Michel, F. Milord, C. J. O'Callaghan, L. Trudel, and R. A. Thompson. 2008d. Risk maps for range expansion of the Lyme disease vector, *Ixodes scapularis*, in Canada now and with climate change. *International Journal of Health Geographics* 7: 24.

- Oliver, J. H., M. R. Owsley, H. J. Hutcheson, A. M. James, C. S. Chen, W. S. Irby, E. M. Dotson, and D. K. Mclain. 1993. Conspecificity of the ticks *Ixodes scapularis* and *Ixodes dammini* (Acari, Ixodidae). *J. Med. Entomol.* 30: 54-63.
- OMS. 2004. Global strategic framework for integrated vector management, Geneva.
- Ornstein, K., Y. Ostberg, J. Bunikis, L. Noppa, J. Berglund, R. Norrby, and S. Bergstrom. 2002. Differential immune response to the variable surface loop antigen of P66 of *Borrelia burgdorferi sensu lato* species in geographically diverse populations of Lyme borreliosis patients. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 9: 1382-1384.
- Ostfeld, R. S. 2011. Lyme disease : the ecology of a complex system, Oxford University Press, New York, USA.
- Ostfeld, R. S., and F. Keesing. 2000. Pulsed resources and community dynamics of consumers in terrestrial ecosystems. *Trends Ecol. Evol.* 15: 232-237.
- Ostfeld, R. S., O. M. Cepeda, K. R. Hazler, and M. C. Miller. 1995. Ecology of Lyme disease - Habitat associations of ticks (*Ixodes scapularis*) in a rural landscape. *Ecol. Appl.* 5: 353-361.
- Paquette, A., and C. Messier. 2011. The effect of biodiversity on tree productivity: from temperate to boreal forests. *Global Ecol. Biogeogr.* 20: 170–180.
- Parola, P., and R. Didier. 2001. Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: An emerging infectious threat. *Clin. Infect. Dis.* 32: 897-928.
- Patz, J. A. 2001. Public health risk assessment linked to climatic and ecological change. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 7: 1317-1327.

- Pavlovsky, E. N. 1966. Natural nidity of transmissible diseases with special reference to the landscape epidemiology of zoonthroponoses. Edited by N. D. Levine, University of Illinois Press.
- Pérez-Eid, C. 2007. pp. 314. In É. m. internationales (ed.), Les tiques: Identification, biologie, importance médicale et vétérinaire. Collection monographies de microbiologie. Lavoisier, France.
- Perkins, S. E., I. M. Cattadori, V. Tagliapietra, A. P. Rizzoli, and P. J. Hudson. 2003. Empirical evidence for key hosts in persistence of a tick-borne disease. *Int. J. Parasitol.* 33: 909-917.
- Persing, D. H., S. R. Telford, P. N. Rys, D. E. Dodge, T. J. White, S. E. Malawista, and A. Spielman. 1990. Detection of *Borrelia burgdorferi* DNA in Museum specimens of *Ixodes dammini* ticks. *Science* 249: 1420-1423.
- Peterson, A. T., N. Komar, O. Komar, A. Navarro-Siguenza, M. B. Robbins, and E. Martinez-Meyer. 2004. West Nile virus in the New World: potential impacts on bird species. *Bird Conservation International* 14: 215-232.
- Picheral, H. 1983. Complexes et systèmes pathogènes : approche géographique, in : De l'épidémiologie à la géographie humaine. Travaux et documents de géographie tropicale, No.48, ACCT/CEGET, pp. 313, Paris.
- Piesman, J. 1993. Dynamics of *Borrelia burgdorferi* transmission by nymphal *Ixodes dammini* ticks. *J. Infect. Dis.* 167: 1082-1085.
- Piesman, J., and M. C. Dolan. 2002. Protection against lyme disease spirochete transmission provided by prompt removal of nymphal *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.* 39: 509-512.

- Piesman, J., J. G. Donahue, T. N. Mather, and A. Spielman. 1986. Transovarially acquired Lyme disease spirochetes (*Borrelia burgdorferi*) in field-collected larval *Ixodes dammini* (Acari, Ixodidae). *J. Med. Entomol.* 23: 219-219.
- Piesman, J., T. N. Mather, R. J. Sinsky, and A. Spielman. 1987. Duration of tick attachment and *Borrelia burgdorferi* transmission. *J. Clin. Microbiol.* 25: 557-558.
- Piesman, J., A. Spielman, P. Etkind, T. K. Ruebush, and D. D. Juranek. 1979. Role of deer in the epizootiology of *Babesia microti* in Massachusetts, USA. *J. Med. Entomol.* 15: 537-540.
- Pinto, D. S. 2002. Cardiac manifestations of Lyme disease. *Med. Clin. North Am.* 86: 285-296.
- Postic, D., M. V. Assous, P. A. Grimont, and G. Baranton. 1994. Diversity of *Borrelia burgdorferi sensu lato* evidenced by restriction fragment length polymorphism of rrf (5S)-rrl (23S) intergenic spacer amplicons. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 44: 743-752.
- Powell, K. I., J. M. Chase, and T. M. Knight. 2011. A synthesis of plant invasion effects on biodiversity across spatial scales. *Am. J. Bot.* 98: 539-548.
- Prusinski, M. A., H. Y. Chen, J. M. Drobnack, S. J. Kogut, R. G. Means, J. J. Howard, J. Oliver, G. Lukacik, P. B. Backenson, and D. J. White. 2006. Habitat structure associated with *Borrelia burgdorferi* prevalence in small mammals in New York State. *Environ. Entomol.* 35: 308-319.
- Purse, B. V., P. S. Mellor, D. J. Rogers, A. R. Samuel, P. P. C. Mertens, and M. Baylis. 2005. Climate change and the recent emergence of bluetongue in Europe. *Nature Reviews Microbiology* 3: 171-181.

- Ramamoorthi, N., S. Narasimhan, U. Pal, F. K. Bao, X. F. F. Yang, D. Fish, J. Anguita, M. V. Norgard, F. S. Kantor, J. F. Anderson, R. A. Koski, and E. Fikrig. 2005. The Lyme disease agent exploits a tick protein to infect the mammalian host. *Nature* 436: 573-577.
- Rand, P. W., E. H. Lacombe, R. P. Smith, and J. Ficker. 1998. Participation of birds (Aves) in the emergence of Lyme disease in southern Maine. *J. Med. Entomol.* 35: 270-276.
- Rand, P. W., C. Lubelczyk, G. R. Lavigne, S. Elias, M. S. Holman, E. H. Lacombe, and R. P. Smith. 2003. Deer density and the abundance of *Ixodes scapularis* (Acari : Ixodidae). *J. Med. Entomol.* 40: 179-184.
- Randolph, S. E. 1975. Patterns of distribution of the tick *Ixodes trianguliceps birula* on its hosts. *J. Anim. Ecol.* 44: 451-474.
- Randolph, S. E. 2004a. Tick ecology: processes and patterns behind the epidemiological risk posed by *ixodid* ticks as vectors. *Parasitology* 129: S37-S65.
- Randolph, S. E. 2004b. Evidence that climate change has caused 'emergence' of tick-borne diseases in Europe? *Int. J. Med. Microbiol.* 293: 5-15.
- Randolph, S. E. 2008. The impact of tick ecology on pathogen transmission dynamics, pp. 40-72. In A. S. Bowman and P. Nuttall (eds.), *Ticks. Biology, Disease and Control*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- 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.

- Randolph, S. E., D. Miklisova, J. Lysy, D. J. Rogers, and M. Labuda. 1999. Incidence from coincidence: patterns of tick infestations on rodents facilitate transmission of tick-borne encephalitis virus. *Parasitology* 118: 177-186.
- Reisen, W. K. 2010. Landscape epidemiology of vector-borne diseases. *Annu. Rev. Entomol.* 55: 461-483.
- Richter, D., A. Spielman, N. Komar, and F. R. Matuschka. 2000. Competence of American robins as reservoir hosts for Lyme disease spirochetes. *Emerg. Infect. Dis.* 6: 133-138.
- Richter, D., D. Postic, N. Sertour, I. Livey, F. R. Matuschka, and G. Baranton. 2006. Delineation of *Borrelia burgdorferi sensu lato* species by multilocus sequence analysis and confirmation of the delineation of *Borrelia spielmanii* sp nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 56: 873-881.
- Riehle, M., and S. M. Paskewitz. 1996. *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae): Status and changes in prevalence and distribution in Wisconsin between 1981 and 1994 measured by deer surveillance. *J. Med. Entomol.* 33: 933-938.
- Rodgers, S. E., and T. N. Mather. 2006. Evaluating satellite sensor-derived indices for Lyme disease risk prediction. *J. Med. Entomol.* 43: 337-343.
- Rodhain, F. 1985. Arbovirus-vector relationships. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 78: 763-768.
- Rogic, A., N. Tessier, P. Legendre, F. J. Lapointe, and V. Millien. 2013. Genetic structure of the white-footed mouse in the context of the emergence of Lyme disease in southern Quebec. *Ecol Evol* 3: 2075-2088.
- Rosa, P. A. 1997. Microbiology of *Borrelia burgdorferi*. *Semin. Neurol.* 17: 5-10.

- Rudenko, N., M. Golovchenko, L. Grubhoffer, and J. H. Oliver, Jr. 2011. Updates on *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex with respect to public health. *Ticks Tick Borne Dis* 2: 123-128.
- Schmid, G. P., A. G. Steigerwalt, S. E. Johnson, A. G. Barbour, A. C. Steere, I. M. Robinson, and D. J. Brenner. 1984. DNA characterization of the spirochete that causes Lyme disease. *J. Clin. Microbiol.* 20: 155-158.
- Schulze, T. L., and R. A. Jordan. 1995. Potential influence of leaf-litter depth on effectiveness of granular carbaryl against subadult *Ixodes scapularis* (Acari, Ixodidae). *J. Med. Entomol.* 32: 205-208.
- Schulze, T. L., and B. A. Jordan. 2005. Influence of meso- and microscale habitat structure on focal distribution of sympatric *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* (Acari : Ixodidae). *J. Med. Entomol.* 42: 285-294.
- Schulze, T. L., R. A. Jordan, and R. W. Hung. 1995. Suppression of subadult *Ixodes scapularis* (Acari, Ixodidae) following removal of leaf-litter. *J. Med. Entomol.* 32: 730-733.
- Schulze, T. L., G. S. Bowen, M. F. Lakat, W. E. Parkin, and J. K. Shisler. 1986a. Seasonal abundance and hosts of *Ixodes dammini* (Acari, Ixodidae) and other *ixodid* ticks from an endemic Lyme disease focus in New Jersey, USA. *J. Med. Entomol.* 23: 105-109.
- Schulze, T. L., M. F. Lakat, W. E. Parkin, J. K. Shisler, D. J. Charette, and E. M. Bosler. 1986b. Comparison of rates of infection by the Lyme disease spirochete in selected populations of *Ixodes dammini* and *Amblyomma americanum* (Acari, Ixodidae). *Zentralblatt Fur Bakteriologie Mikrobiologie Und Hygiene Series a-Medical Microbiology Infectious Diseases Virology Parasitology* 263: 72-78.

- Scott, J. D., K. Fernando, L. A. Durden, and M. G. Morshed. 2004. Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*, endemic in epicenter at Turkey Point, Ontario. *J. Med. Entomol.* 41: 226-230.
- Scott, J. D., M. K. Lee, K. Fernando, D. R. Jorgensen, L. A. Durden, and M. G. Morshed. 2008. Rapid introduction of Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, in *Ixodes scapularis* (Acari : Ixodidae) established at Turkey Point Provincial Park, Ontario, Canada. *J. Vector Ecol.* 33: 64-69.
- Scott, J. D., M. K. Lee, K. Fernando, L. A. Durden, D. R. Jorgensen, S. Mak, and M. G. Morshed. 2010. Detection of Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, including three novel genotypes in ticks (Acari: Ixodidae) collected from songbirds (Passeriformes) across Canada. *J. Vector Ecol.* 35: 124-139.
- Scott, J. D., K. Fernando, S. N. Banerjee, L. A. Durden, S. K. Byrne, M. Banerjee, R. B. Mann, and M. G. Morshed. 2001. Birds disperse *Ixodid* (Acari : Ixodidae) and *Borrelia burgdorferi*-infected ticks in Canada. *J. Med. Entomol.* 38: 493-500.
- Scriment, R. 1970. *Erythema chronicum migrans*. *Arch. Dermatol.* 102: 104-105.
- Sorre, M. 1933. Complexes pathogènes et géographie médicale, *Annales de Géographie*, No.235, January, pp.1-18.
- Spielman, A., M. L. Wilson, J. F. Levine, and J. Piesman. 1985. Ecology of *Ixodes dammini*-borne human babesiosis and Lyme disease. *Annu. Rev. Entomol.* 30: 439-460.
- Stafford, K. C. 1992. Oviposition and larval dispersal of *Ixodes dammini* (Acari, Ixodidae). *J. Med. Entomol.* 29: 129-132.

- Stafford, K. C. 1994. Survival of immature *Ixodes scapularis* (Acari, Ixodidae) at different relative humidities. *J. Med. Entomol.* 31: 310-314.
- Stafford, K. C., and L. A. Magnarelli. 1993. Spatial and temporal patterns of *Ixodes scapularis* (Acari, Ixodidae) in southeastern Connecticut. *J. Med. Entomol.* 30: 762-771.
- Stafford, K. C., V. C. Bladen, and L. A. Magnarelli. 1995. Ticks (Acari, Ixodidae) infesting wild birds (Aves) and white-footed mice in Lyme, CT. *J. Med. Entomol.* 32: 453-466.
- Stanek, G., G. P. Wormser, J. Gray, and F. Strle. 2012. Lyme borreliosis. *Lancet* 379: 461-473.
- Steere, A. C. 2001. Lyme disease. *N. Engl. J. Med.* 345: 115-125.
- Steere, A. C., J. Coburn, and L. Glickstein. 2004. The emergence of Lyme disease. *J. Clin. Invest.* 113: 1093-1101.
- Steere, A. C., V. K. Sikand, R. T. Schoen, and J. Nowakowski. 2003. Asymptomatic infection with *Borrelia burgdorferi*. *Clin. Infect. Dis.* 37: 528-532.
- Steere, A. C., S. E. Malawista, D. R. Snyderman, R. E. Shope, W. A. Andiman, M. R. Ross, and F. M. Steele. 1977. Lyme arthritis - epidemic of oligoarticular arthritis in children and adults in 3 Connecticut communities. *Arthritis Rheum.* 20: 7-17.
- Steere, A. C., R. L. Grodzicki, A. N. Kornblatt, J. E. Craft, A. G. Barbour, W. Burgdorfer, G. P. Schmid, E. Johnson, and S. E. Malawista. 1983a. The spirochetal etiology of Lyme disease. *N. Engl. J. Med.* 308: 733-740.
- Steere, A. C., N. H. Bartenhagen, J. E. Craft, G. J. Hutchinson, J. H. Newman, D. W. Rahn, L. H. Sigal, P. N. Spieler, K. S. Stenn, and S. E. Malawista. 1983b. The early clinical manifestations of Lyme disease. *Ann. Intern. Med.* 99: 76-82.

- Stewart, P. E., R. Byram, D. Grimm, K. Tilly, and P. A. Rosa. 2005. The plasmids of *Borrelia burgdorferi*: essential genetic elements of a pathogen. *Plasmid* 53: 1-13.
- Suss, J., and F. W. Gerstengarbe. 2008. What makes ticks tick? Climate change, ticks and tick-borne diseases. *Parasitol. Res.* 103: 157-158.
- Swanson, S. J., D. Neitzel, K. D. Reed, and E. A. Belongia. 2006. Coinfections acquired from *Ixodes* ticks. *Clin. Microbiol. Rev.* 19: 708-727.
- Swei, A., R. S. Ostfeld, R. S. Lane, and C. J. Briggs. 2011a. Effects of an invasive forest pathogen on abundance of ticks and their vertebrate hosts in a California Lyme disease focus. *Oecologia* 166: 91-100.
- Swei, A., R. S. Ostfeld, R. S. Lane, and C. J. Briggs. 2011b. Impact of the experimental removal of lizards on Lyme disease risk. *Proc Biol Sci* 278: 2970-2978.
- Swei, A., C. J. Briggs, R. S. Lane, and R. S. Ostfeld. 2012. Impacts of an introduced forest pathogen on the risk of Lyme disease in California. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 12: 623-632.
- Talleklint, L., T. G. T. Jaenson, and T. N. Mather. 1993. Seasonal-variation in the capacity of the bank vole to infect larval ticks (Acari, Ixodidae) with the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*. *J. Med. Entomol.* 30: 812-815.
- Talleklint-Eisen, L., and R. S. Lane. 2000. Spatial and temporal variation in the density of *Ixodes pacificus* (Acari : Ixodidae) nymphs. *Environ. Entomol.* 29: 272-280.
- Telfer, S., K. J. Bown, R. Sekules, M. Begon, T. Hayden, and R. Birtles. 2005. Disruption of a host-parasite system following the introduction of an exotic host species. *Parasitology* 130: 661-668.

- Telford, S. R., 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.
- Telford, S. R., T. N. Mather, S. I. Moore, M. L. Wilson, and A. Spielman. 1988. Incompetence of deer as reservoirs of *Borrelia burgdorferi*. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 539: 429-430.
- Thompson, C., A. Spielman, and P. J. Krause. 2001. Coinfecting deer-associated zoonoses: Lyme disease, babesiosis, and ehrlichiosis. *Clin. Infect. Dis.* 33: 676-685.
- Tilly, K., P. A. Rosa, and P. E. Stewart. 2008. Biology of infection with *Borrelia burgdorferi*. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 22: 217-234.
- Tran, A., F. Biteau-Coroller, H. Guis, and F. Roger. 2005. Modélisation des maladies vectorielles. *Épidémiologie et santé animale* 47: 35-51.
- Troll, C. 1939. Luftbildplan and okolo- gische Bodenforschung. *Z. Ges. Erdkunde, Berlin*: 241-298.
- 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. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101: 18159-18164.
- Vourc'h, G., J. Marmet, M. Chassagne, S. Bord, and J. L. Chapuis. 2007. *Borrelia burgdorferi sensu lato* in Siberian chipmunks (*Tamias sibiricus*) introduced in suburban forests in France. *Vector-Borne and Zoo Dis* 7: 637-641.
- Waladde, S. M. 1982. Tip-recording from *Ixodid* tick olfactory sensilla - Responses to tick related odors. *Journal of Comparative Physiology* 148: 411-418.

- Walk, S. T., G. Xu, J. W. Stull, and S. M. Rich. 2009. Correlation between tick density and pathogen endemicity, New Hampshire. *Emerg. Infect. Dis.* 15: 585-587.
- Wang, G. Q., A. P. van Dam, I. Schwartz, and J. Dankert. 1999. Molecular typing of *Borrelia burgdorferi sensu lato*: Taxonomic, epidemiological, and clinical implications. *Clin. Microbiol. Rev.* 12: 633-653.
- Watson, T. G., and R. C. Anderson. 1976. *Ixodes scapularis* say on white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) from Long Point, Ontario. *J. Wildl. Dis.* 12: 66-71.
- Wesson, D. M., D. K. Mclain, J. H. Oliver, J. Piesman, and F. H. Collins. 1993. Investigation of the validity of species status of *Ixodes dammini* (Acari, Ixodidae) using rDna. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90: 10221-10225.
- Wilske, B., S. Jaurisheipke, R. Lobentanzer, I. Pradel, V. Preacmursic, D. Rossler, E. Soutschek, and R. C. Johnson. 1995. Phenotypic analysis of outer surface protein-C (ospC) of *Borrelia burgdorferi sensu lato* by monoclonal antibodies relationship to genospecies and OspA serotype. *J. Clin. Microbiol.* 33: 103-109.
- Wilson, K., O. N. Bjornstad, A. P. Dobson, S. Merler, G. Poglayen, S. E. Randolph, A. F. Read, and A. Skorping (eds.). 2002. Heterogeneities in macroparasite infections: patterns and processes., New York, USA.
- Wilson, M. L., and A. Spielman. 1985. Seasonal activity of immature *Ixodes dammini* (Acari, Ixodidae). *J. Med. Entomol.* 22: 408-414.
- Wilson, M. L., J. F. Levine, and A. Spielman. 1984. Effect of deer reduction on abundance of the deer tick (*Ixodes dammini*). *Yale J. Biol. Med.* 57: 697-705.

- Wilson, M. L., S. Telford, III, J. Piesman, and A. Spielman. 1988. Reduced abundance of immature *Ixodes dammini* (Acari, Ixodidae) following elimination of deer. *J. Med. Entomol.* 25: 224-228.
- Wilson, M. L., A. M. Ducey, T. S. Litwin, T. A. Gavin, and A. Spielman. 1990. Microgeographic distribution of immature *Ixodes dammini* ticks correlated with that of deer. *Med. Vet. Entomol.* 4: 151-159.
- Wood, C. L., and K. D. Lafferty. 2012. Biodiversity and disease: a synthesis of ecological perspectives on Lyme disease transmission. *Trends Ecol. Evol.* 28: 239-247.
- Wormser, G. P., R. J. Dattwyler, E. D. Shapiro, J. J. Halperin, A. C. Steere, M. S. Klempner, P. J. Krause, J. S. Bakken, F. Strle, G. Stanek, L. Bockenstedt, D. Fish, J. S. Dumler, and R. B. Nadelman. 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: 1089-1134.
- Yuval, B., and A. Spielman. 1990. Sperm precedence in the deer tick *Ixodes dammini*. *Physiol. Entomol.* 15: 123-128.
- Zhioua, E., F. Rodhain, P. Binet, and C. Perez-Eid. 1997. Prevalence of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in forestry workers of Ile de France, France. *Eur. J. Epidemiol.* 13: 959-962.

Annexe

Annexe 1. Formulaire d'autorisation d'utilisation des animaux de l'Université de Montréal

Lundi, le 21 avril 2008

Monsieur Nicholas Ogden
Professeur associé
Faculté de médecine vétérinaire – Pathologie et microbiologie

Monsieur Ogden,

À la suite de l'évaluation de votre demande d'autorisation d'utiliser des animaux pour le projet :

Projet : 08-Rech-1446

Titre : Étude épidémiologique sur les zoonoses transmises par les tiques au sud-ouest du Québec.

Le Comité d'éthique de l'utilisation des animaux (CÉUA) **a approuvé votre projet. Cependant, le Comité exige que les animaux de poids supérieur à celui de *Tamias striatus* soient euthanasiés à l'aide d'un mélange de Kétamine-Xylazine.**

Le secrétariat du CÉUA vous enverra sous peu une fiche d'autorisation d'utiliser des animaux. Il est important de noter le numéro de votre projet indiqué sur cette fiche pour commander vos animaux et réserver des espaces d'hébergement.) L'autorisation du CÉUA est valide pour une période **d'un an**. **La date limite** est inscrite sur la fiche d'autorisation d'utiliser des animaux.

Veillez prendre note que toute approbation d'utilisation d'animaux vivants à des fins d'enseignement ou de recherche par le Comité d'éthique de l'utilisation des animaux (CÉUA) est conditionnelle à la disponibilité du personnel technique et animalier (ressources humaines) nécessaire, des locaux et de l'équipement appropriés à l'hébergement des animaux.

Je demeure à votre entière disposition pour toute information supplémentaire et vous prie de recevoir, Monsieur Ogden, mes meilleures salutations.

Le président intérimaire du CÉUA,

Jean Piérard

Tél. : 8295

JP/lg