

2m11. 2664.5

Université de Montréal

Étude séro-épidémiologique d'agents de zoonoses virales et bactériennes chez
l'écureuil gris (*Sciurus carolinensis*) sur l'île de Montréal.

par
Geneviève Côté

Département de pathologie et microbiologie
Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de
Maître ès sciences (M.Sc.)
en sciences vétérinaires
option épidémiologie

Août 1998

©Geneviève Côté, 1998



SF
607
U54
1999
V.006

Université de Montréal

Étude des stratégies d'usage de services sociaux et psychologiques
chez les étudiants universitaires de Montréal

Le Prof.
Christine Lévesque

Département de psychologie et neurobiologie
Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de
Maîtrise en sciences (M.Sc.)
en psychologie clinique
et psychologie expérimentale



Commissaire à l'éthique

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé:

Étude séro-épidémiologique d'agents de zoonoses virales et bactériennes chez
l'écureuil gris (*Sciurus carolinensis*) sur l'île de Montréal.

présenté par
Geneviève Côté

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes:

Dr Robert Higgins, président rapporteur
Dre Denise Bélanger, directrice
Dr Michel Couillard, codirecteur
Dr Michel Bigras-Poulin, membre du jury

Mémoire accepté le: 27. 11. 1998

SOMMAIRE

Parmi les animaux sauvages qui ont des contacts avec l'humain en région urbaine, l'écureuil gris se démarque tant par la densité élevée de sa population que par le compagnonnage presque familial que plusieurs individus ont développé avec l'humain. Il faut cependant reconnaître que l'impact de ce voisinage sur la santé humaine est plutôt méconnu. Cette étude a pour objet d'évaluer la présence d'agents de zoonoses virales (virus Sin Nombre, Powassan et de l'encéphalite équine de l'Est) et bactériennes (*Francisella tularensis*, *Leptospira interrogans*) chez l'écureuil gris, en milieu urbain.

À l'automne 1996 et au printemps 1997, 156 écureuils gris ont été capturés dans trois parcs de la communauté urbaine de Montréal (Lafontaine, Mont-Royal et Maisonneuve-Rosemont). Un prélèvement sanguin par voie intracardiaque a été effectué et des données physiologiques portant sur le sexe, l'âge, le poids et la taille des animaux ont été recueillies. La recherche de tiques sur les animaux a été effectuée dans le but de documenter la présence de vecteurs d'agents de zoonoses chez cette espèce.

Les résultats obtenus démontrent l'absence d'anticorps sériques contre les trois pathogènes viraux et les deux pathogènes bactériens. La collecte d'ectoparasites a permis d'identifier la présence de puces (*Cediopsulla simplex*) chez cette espèce.

La population d'écureuils gris occupant les trois parcs du centre de Montréal ne semble pas exposée à des agents de zoonoses virales déjà diagnostiquées au Québec. Toutefois, le nombre de spécimens étudiés ne permet pas d'exclure un faible niveau

de risque. La faune urbaine devra faire l'objet d'autres études pour évaluer le risque réel qu'elle peut représenter pour l'humain et leurs animaux de compagnie.

TABLE DES MATIÈRES

SOMMAIRE	I
TABLE DES MATIÈRES	III
LISTE DES TABLEAUX	VI
LISTE DES FIGURES	VII
REMERCIEMENTS	VIII
1. INTRODUCTION	1
2. REVUE DE LA LITTÉRATURE	3
2.1 Biologie et cycle de vie de l'écureuil gris	3
2.1.1 Description	3
2.1.2 Distribution géographique	4
2.1.3 Habitats naturels	5
2.1.4 Données morphométriques	5
2.1.5 Reproduction et longévité	5
2.2 Études démontrant une évidence de la présence d'agents de zoonoses chez l'écureuil gris en Amérique du Nord	6
2.2.1 Études expérimentales	6
2.2.2 Études en milieu non-urbain	7
2.2.3 Études en milieu urbain	8
2.2.4 Cas d'infections humaines associées aux sciuridés	9
2.3 Parasites externes de l'écureuil gris	10
2.4 Épidémiologie des agents de zoonoses impliqués dans cette étude	10
2.4.1 Virus de l'encéphalite équine de l'Est	10
2.4.1.1 Historique et étiologie	10
2.4.1.2 Maladie chez l'humain	11
2.4.1.3 Incidence humaine et distribution géographique	11
2.4.1.4 Sources d'infection et modes de transmission	12

	IV	
2.4.2	Virus Sin Nombre	13
2.4.2.1	Historique et étiologie	13
2.4.2.2	Maladie chez l'humain	14
2.4.2.3	Incidence humaine et distribution géographique	14
2.4.2.4	Sources d'infection et modes de transmission	15
2.4.3	Virus Powassan	18
2.4.3.1	Historique et étiologie	18
2.4.3.2	Maladie chez l'humain	18
2.4.3.3	Incidence humaine et distribution géographique	18
2.4.3.4	Sources d'infection et modes de transmission	20
2.4.4	<i>Francisella tularensis</i>	21
2.4.4.1	Historique et étiologie	21
2.4.4.2	Maladie chez l'humain	21
2.4.4.3	Incidence humaine et distribution géographique	22
2.4.4.4	Sources d'infection et modes de transmission	23
2.4.5	<i>Leptospira interrogans</i>	25
2.4.5.1	Historique et étiologie	25
2.4.5.2	Maladie chez l'humain	25
2.4.5.3	Incidence humaine et distribution géographique	26
2.4.5.4	Sources d'infection et modes de transmission	26
3.	MATÉRIELS, MÉTHODES ET RÉSULTATS	29
Article.- Seroepidemiologic study on viral and bacterial zoonotic agents of the grey squirrel (<i>Sciurus carolinensis</i>) in Montreal, Quebec.		
	ABSTRACT	30
	INTRODUCTION	30
	MATERIALS AND METHODS	31
	RESULTS	33
	DISCUSSION	34
	ACKNOWLEDGMENTS	38
	LITERATURE CITED	38
	TABLE 1	43

	V
4. DISCUSSION GÉNÉRALE	44
4.1 Problématique de l'écureuil gris en milieu urbain	44
4.2 Interprétation des résultats	46
4.2.1 Le virus de l'encéphalite équine de l'Est	46
4.2.2 Le virus Sin Nombre	47
4.2.3 Le virus Powassan	48
4.2.4 <i>Francisella tularensis</i>	49
4.2.5 <i>Leptospira interrogans</i>	50
4.2.6 Autres microorganismes	50
4.2.7 Parasites externes	51
4.2.8 Biais	51
4.2.8.1 Type d'étude et méthode de diagnostic	51
4.2.8.2 Grandeur et représentativité de l'échantillon	52
4.2.8.3 Technique de capture	53
4.2.8.4 Période de capture	53
5. CONCLUSION GÉNÉRALE	54
BIBLIOGRAPHIE	55
ANNEXE 1	IX
ANNEXE 2	X
ANNEXE 3	XI

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I	Familles de mammifères pour lesquelles une évidence sérologique d'exposition à des hantavirus a été démontrée en Amérique du Nord	16
Tableau II	Distribution du poids et de la longueur (\bar{x} +/- erreur-type) des écureuils gris en fonction du sexe et de l'âge	IX
Article		
Table 1	Distribution of captures of grey squirrels in three central urban parks in Montreal, Quebec, 1996-1997	43

LISTE DES FIGURES

Figure 1 Distribution de l'écureuil gris au Canada

4

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier sincèrement les personnes et les organismes suivants:

Le Fonds du Centenaire de la faculté de médecine vétérinaire pour l'attribution d'une bourse d'étude et les fonds ayant servi à la recherche.

La communauté urbaine de Montréal, pour son aide précieuse et les locaux fournis lors de l'échantillonnage.

Mes directeurs, les Drs Denise Bélanger et Michel Couillard pour leur encouragement et leur grande disponibilité, malgré leurs horaires très chargés.

Le Dr Harvey Artsob et son personnel de laboratoire pour leur accueil chaleureux dans leur laboratoire lors des analyses.

Le personnel du laboratoire de sérodiagnostic et virologie du laboratoire de santé publique du Québec pour m'avoir patiemment enseigné les techniques de laboratoire et Mme Trudel pour son cours sur les tiques.

Dr Guy Beauchamp et Dr Denis du Tremblay, pour leur aide précieuse et tout le personnel administratif de la faculté de médecine vétérinaire pour leur extrême gentillesse.

Dr Jean Ferron pour nous avoir si bien accueilli et livrer les secrets de l'écureuil gris.

Dr Jean-Pierre Bourassa pour le prêt des cages et ses conseils judicieux.

1. INTRODUCTION

Au cours de l'histoire, l'activité humaine a entraîné des modifications majeures de l'environnement et perturbé les écosystèmes naturels:

"L'urbanisation, c'est à dire la création d'un écosystème artificiel très particulier, avant tout caractérisé par la dominance d'une espèce, l'homme, mais apte à l'installation d'animaux synanthropes comme certains rongeurs: rats dans les égouts, rats et souris dans les habitations, etc. avec le cortège des agents infectieux qu'ils véhiculent" (Rodhain, 1996).

L'écureuil gris (*Sciurus carolinensis*) représente un bel exemple d'un rongeur sauvage s'étant bien adapté au phénomène de l'urbanisation, sa présence étant remarquée dans maints parcs et jardins de banlieue. De plus, contrairement aux rats et aux souris, les écureuils bénéficient d'un privilège certain, soit celui de recevoir de la nourriture des mains du public régulièrement. Cette habitude peut entraîner diverses conséquences néfastes comme la surpopulation d'écureuils gris et la facilitation de la transmission d'agents infectieux des écureuils à l'humain par le biais notamment de morsures. Peu d'études se sont intéressées à la problématique de la faune urbaine dans un contexte de santé publique. Considérant la situation particulière de l'écureuil gris, il apparaît important de vérifier si ce rongeur représente un risque pour la santé publique.

Le présent mémoire a donc pour objectif principal d'estimer la séroprévalence d'agents de zoonoses déjà rapportés au Québec et dont le cycle épidémiologique implique, entre autres, des mammifères de l'ordre des rongeurs, chez la population d'écureuils gris du centre de Montréal. L'objectif secondaire étant d'identifier leurs tiques afin de documenter la présence de vecteurs d'agents de zoonoses chez ce rongeur. Mais avant de poursuivre, il importe, et ce, afin de mieux situer dans leur contexte respectif les objectifs de cette maîtrise, de survoler brièvement la biologie et

le cycle de vie de l'écureuil gris, de faire mention des différents agents de zoonoses rapportés dans la littérature chez cette espèce et de décrire l'épidémiologie des zoonoses qui ont été ciblées dans cette étude.

2. REVUE DE LA LITTÉRATURE

2.1 Biologie et cycle de vie de l'écureuil gris

2.1.1 Description

L'écureuil gris appartient à la famille des sciuridés (ordre des Rongeurs). Au Québec, cette famille comprend également la marmotte commune, le suisse, le tamia mineur, l'écureuil roux, le petit et le grand polatouche. Il existe également une variété mélanique de l'écureuil gris, l'écureuil noir. Il est possible d'observer aussi des individus de couleur brun foncé ou rouge brun ainsi que des cas d'albinisme partiel. Ce petit mammifère principalement arboricole est actif à l'année longue. L'écureuil gris est un omnivore dont le régime de base est constitué de noix. Selon les saisons, il se nourrit également de bourgeons, de fleurs et de samares, de noisettes, de fruits, de sève, d'insectes, d'oeufs d'oiseaux et d'oisillons, de champignons, de brindilles et d'écorces (Ministère de l'Environnement et de la Faune, 1985).

2.1.2 Distribution géographique



Figure 1. Distribution géographique de l'écureuil gris au Canada

L'écureuil gris habite l'est de l'Amérique du Nord (la limite ouest étant représentée par la province de la Saskatchewan), depuis la Floride jusqu'au Golfe du Mexique et en direction nord jusqu'au sud du Canada, où sa présence a été notée dans sept provinces (une population a été introduite en Colombie-Britannique). Au Québec, la distribution géographique de l'écureuil gris s'étend des Cantons de l'Est et de la Beauce jusqu'à la région de Montréal en incluant une portion des Laurentides montréalaises et outaouaises. Ce mammifère est présent sur les dix montérégiennes et également dans le parc de la Vérendrye (Prescott et Richard, 1982; Ministère de l'Environnement et de la Faune, 1985; Burt et Grossenheider, 1992; Koprowski, 1994).

2.1.3 Habitats naturels

Les habitats naturels de l'écureuil gris sont les forêts mixtes et de feuillus. Leur densité est plus élevée là où l'on retrouve des arbres producteurs de noix (Prescott et Richard, 1982; Koprowski, 1994). Toutefois, cet animal s'est bien adapté aux villes et on note d'ailleurs sa présence dans plusieurs parcs urbains et sur les pelouses des habitations (Prescott et Richard, 1982). L'étendue du territoire d'un individu est influencée par plusieurs variables dont la densité de la population, le sexe et l'âge, la disponibilité de la nourriture et l'habitat (Flyger et Gates, 1982). Au mois de mars 1996, on estimait la densité moyenne d'écureuils gris dans le parc Lafontaine, un parc très fréquenté de Montréal, à 24,93 écureuils par hectare (Lachapelle, 1996). En milieu forestier, la densité moyenne de population est habituellement inférieure à 3,5 écureuils gris par hectare (Flyger et Gates, 1982; Koprowski, 1994).

2.1.4 Données morphométriques

Il n'existe pas de dimorphisme sexuel relativement à la couleur et la taille. En Amérique du Nord, le poids d'un écureuil adulte varie entre 300 et 710 grammes et la longueur totale entre 380 et 525 millimètres. La queue mesure entre 150 et 250 millimètres (Koprowski, 1994). La taille peut varier avec les régions, les mensurations plus élevées correspondant aux régions plus nordiques. Des sous-espèces de *S. carolinensis* sont à l'origine de cette différence (Uhlig, 1955).

2.1.5 Reproduction et longévité

Au Québec, les deux périodes d'accouplement se situent en janvier-février et en juillet (Burt et Grossenheider, 1992). Seulement le tiers des femelles auraient deux portées par année, mais cette proportion augmenterait avec la disponibilité de la nourriture (Gurnell, 1983). La gestation est de 44 jours. Le nombre de petits par portée est en

moyenne de 1,8 à 3,7 avec un mode de 2 à 3 (Koprowski, 1994). Les femelles atteignent leur maturité sexuelle vers 10 ou 11 mois (Flyger et Gates, 1982). La longévité de l'écureuil gris en milieu naturel est de 12,5 ans pour les femelles et de 9 ans pour les mâles en Caroline du Nord (Barkalow et Soots, 1975). Une femelle a déjà survécu plus de 20 ans en captivité (Barkalow et Shorten, 1973). En milieu forestier, seulement 34% des jeunes (du sevrage à l'âge d'un an) nés à l'automne et 37% des jeunes nés au printemps survivent. Quant aux adultes, le pourcentage de mortalité annuel varie entre 42 et 57%. Cette fluctuation est dépendante, entre autres, des conditions environnementales et de la disponibilité de la nourriture (Flyger et Gates, 1982; Koprowski, 1994). Il n'existe pas de données comparatives publiées se rapportant au milieu urbain.

2.2 Études démontrant une évidence de la présence d'agents de zoonoses chez l'écureuil gris en Amérique du Nord

2.2.1 Études expérimentales

Timoney en 1971 démontrait la susceptibilité, en tant que réservoir, de l'écureuil gris au virus de Powassan (POW), un arbovirus transmis à l'humain par des tiques (Timoney, 1971).

En 1972, une étude américaine démontrait que l'écureuil gris était sensible au virus rabique de raton laveur et qu'il était possible qu'il en soit infecté en milieu naturel (Winkler *et al.*, 1972). Cependant, les cas de rage rapportés chez des sciuridés ou même chez d'autres rongeurs sont rares (Cappucci *et al.*, 1972; MacInnes, 1987). Entre 1950 et 1961, un laboratoire de Floride a examiné plus de 10 000 rongeurs pour le virus de la rage et n'a trouvé qu'un seul positif, un petit polatouche (*Glaucomys volans*) (Baer, 1991).

Au cours des années 1970, plusieurs études américaines ont évalué la sensibilité de petits mammifères, dont l'écureuil gris, à différents arbovirus du séro groupe California (CAL). Il a été démontré que l'écureuil gris développe une virémie et produit des anticorps neutralisants après une inoculation avec les virus La Crosse (LAC) (Pantuwatana *et al.*, 1972) et Keystone (Watts *et al.*, 1979).

En 1997, Craine *et al.* ont démontré que l'écureuil gris est un hôte compétent de *Borrelia burgdorferi* (responsable de la maladie de Lyme) et qu'il peut transmettre l'infection à des tiques, permettant ainsi le maintien du cycle dans la nature.

2.2.2 Études en milieu non-urbain

En 1967 et 1968, au Wisconsin (États-Unis), 140 écureuils gris ont été capturés dans une région boisée attenante à une ferme, suite à un cas d'encéphalite californienne chez un jeune garçon. Cinquante-quatre (39%) de ces écureuils étaient porteurs d'anticorps neutralisants le virus LAC (Moulton et Thompson, 1971). Le virus LAC a également été isolé d'écureuils gris sains qui avaient été placés sous captivité comme sentinelles dans une région endémique du Wisconsin (Ksiazek et Yuill, 1977).

Dans les années 1960, 2 études canadiennes (Ontario) et 1 étude américaine (New York) ont rapporté des anticorps neutralisants contre le virus POW chez 33,3 à 83,3% des écureuils gris capturés. La taille des échantillons variait entre 2 et 6 individus (McLean *et al.*, 1964; McLean *et al.*, 1967; Whitney *et al.*, 1968).

Une autre étude menée dans les années 1970 en Floride et en Géorgie, a rapporté une absence d'anticorps sériques contre la bactérie *Leptospira interrogans* dans les 21

sérums d'écureuils gris analysés. Cependant, les chercheurs ont pu isoler la bactérie (sérovar Ballum) à partir des reins d' un sujet (n=26) (Shotts *et al.*, 1975).

En Virginie, dans les années 1972 à 1976, Sonenshine *et al.* ont rapporté la présence d'anticorps contre la bactérie responsable de la fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses (*Rickettsia rickettsii*) chez 6 des 44 (13,4%) écureuils gris qu'ils avaient capturés (Sonenshine *et al.*, 1977).

Lors d'une étude effectuée au Wisconsin, en 1982-1983, sur la séoprévalence de *B. burgdorferi* chez plusieurs petits mammifères, les chercheurs ont obtenu une séropositivité chez 3 des 5 écureuils gris capturés (60%) (Godsey *et al.*, 1987).

De janvier 1987 à juillet 1990 en Floride, lors de l'analyse des sérums de 170 écureuils gris pour deux arbovirus, soient les virus de l'encéphalite de St-Louis (SLE) et de l'encéphalite équine de l'Est (EEE), 6 (3,5%) étaient positifs pour le virus SLE et 3 (1,8%) pour le virus de l'EEE par la technique d'inhibition de l'hémagglutination (HI). Bien que le rôle de l'écureuil gris dans le cycle de transmission du virus SLE restait obscur, il était clair, selon les auteurs, que des vecteurs (moustiques) se nourrissaient sur ces rongeurs et que ces derniers développaient une réponse immunitaire suite à une exposition à l'un ou l'autre de ces virus (Day *et al.*, 1996).

2.2.3 Études en milieu urbain

Il n'existe qu'une seule étude publiée ayant évalué la possibilité que les écureuils gris en milieu urbain soient une source potentielle de maladies chez les humains et les autres espèces animales. En 1974, à Jacksonville en Floride, sur 180 sérums d'écureuils gris analysés, les auteurs ont rapporté une absence d'anticorps sériques contre les virus responsables des encéphalites équines de l'Est et du Venezuela et des

encéphalites de Saint-Louis et de La Crosse. La recherche d'anticorps contre les bactéries responsables de la leptospirose (18 sérovars différents), de la tularémie (*Francisella tularensis*) et finalement de rickettsioses a également été négative (White *et al.*, 1975).

À partir des mêmes animaux, d'autres résultats ont été publiés et démontraient la présence de champignons (isolés d'échantillons de peaux et de griffes) potentiellement pathogènes pour l'être humain, incluant la teigne (*Trichophyton mentagrophytes*), chez 114 (63%) des sujets (Lewis *et al.*, 1975). Des entérovirus humains (Echovirus) ont également été isolés des fèces de 5 écureuils gris mais la source de l'infection n'a pu être déterminée (Hoff et Bigler, 1980).

2.2.4 Cas d'infections humaines associées aux sciuridés

En Amérique du Nord, l'écureuil gris a été incriminé dans la transmission de deux agents infectieux aux humains suite à des morsures: *Francisella tularensis*, responsable de la tularémie (Magee *et al.*, 1989) et *Sporothrix schenckii* responsable de la sporotrichose (Saravanakumar *et al.*, 1996). En Angleterre, par contre, des 21 patients s'étant présentés à l'hôpital entre les années 1987 et 1992, suite à des morsures d'écureuil gris, aucun n'a développé une infection (six d'entre eux avaient reçu une antibiothérapie prophylactique) (Wyatt, 1994).

D'autres espèces de sciuridés, dont le petit polatouche (*Glaucomys volans*) et l'écureuil fauve (*Sciurus niger*) ont été associés respectivement à des cas de typhus (*Rickettsia prowazekii*) (Russo *et al.*, 1981; Centers for Disease Control and Prevention, 1984; McDade, 1987) et à un cas de peste (*Yersinia pestis*) (Hudson *et al.*, 1971) chez des humains aux États-Unis. Finalement dans les Territoires du

Nord-Ouest, l'écureuil roux (*Tamiasciurus hudsonis*) a été associé à deux cas de tularémie (MacKinnon, 1947).

2.3 Parasites externes de l'écureuil gris

Durant l'année 1974, Wilson *et al.* ont recensé 11 espèces différentes d'ectoparasites chez l'écureuil gris lors d'une étude sur la santé et les maladies de ce rongeur, effectuée à Jacksonville, en Floride. Les puces et les poux suceurs étaient les espèces les plus fréquemment observées. Une seule espèce de tique, *Dermacentor variabilis*, a été identifiée sur 2 animaux (n=180) (Wilson *et al.*, 1991). D'autres études ont rapporté la présence d'*Ixodes cookei*, *I. marxi* et *I. muris* chez l'écureuil gris aux États-Unis (Flyger et Gates, 1982). Cependant, les puces et les poux semblent être les ectoparasites les plus souvent retrouvés chez ce rongeur aux États-Unis (Parker, 1968; Durden, 1980). En ce qui concerne le Québec, il n'existe pas d'étude publiée sur les ectoparasites de l'écureuil gris.

2.4 Épidémiologie des agents de zoonoses impliqués dans cette étude

2.4.1 Le virus de l'encéphalite équine de l'Est

2.4.1.1 Historique et étiologie

Le virus de l'encéphalite équine de l'Est est un Flavivirus (groupe A des arbovirus), de la famille des Togaviridae (Morris, 1988). La maladie a été diagnostiquée pour la première fois en 1831 au Massachusetts où 60 chevaux sont morts des suites de cette encéphalite. Cependant, il faudra attendre 1933 pour obtenir le premier isolement de ce virus du cerveau d'un cheval du New Jersey (Scott et Weaver, 1989).

2.4.1.2 Maladie chez l'humain

La période d'incubation varie entre 7 et 10 jours. L'apparition des symptômes est subite. Classiquement, le patient présente de la fièvre, des nausées, des vomissements, des céphalées, une raideur de la nuque et des convulsions. Si le système nerveux central n'est pas impliqué, il y a rémission en 1 à 2 semaines. Cependant, si le système nerveux central est atteint, la stupeur, le coma et la mort peuvent suivre rapidement. Le taux de mortalité varie entre 50 et 90% et des séquelles mentales et physiques sont fréquentes chez les survivants (Scott et Weaver, 1989; Calisher, 1994).

2.4.1.3 Incidence humaine et distribution géographique

Le virus a été isolé à l'est du Canada, aux États-Unis (côte atlantique et région du Golfe du Mexique), en Amérique Centrale et du Sud (Acha et Szyfres, 1989). Entre 1985 et 1994, entre 13 et 36 cas ont été diagnostiqués annuellement aux États-Unis (Centers for Disease Control and Prevention, 1995). En ce qui concerne le Canada, il n'existe aucun rapport de cas humain (Calisher, 1994).

Au Québec, en 1972, une épidémie d'EEE a éclaté dans les Cantons de l'Est, tuant 30 chevaux. Cependant, aucun cas humain n'a été rapporté suite à cet épisode (Bellavance *et al.*, 1985; Sellers, 1989).

Les personnes les plus à risques sont les enfants de moins de 15 ans et les adultes de plus de 55 ans. Ces groupes d'âges compteraient pour 70 à 90 % des cas lors des épidémies. Dans les régions plus nordiques de l'Amérique du Nord, le pic de transmission pour l'humain et les chevaux se situe entre juillet et octobre (correspondant à la saison des moustiques) (Morris, 1988).

2.4.1.4 Sources d'infections et modes de transmission

Le virus de l'EEE a été isolé d'humains, de chevaux, d'oiseaux sauvages, de plusieurs petits mammifères et/ou de moustiques au Canada (Québec, Ontario et Alberta) et aux États-Unis (presque tous les états à l'est du Mississippi et à l'ouest: au Minnesota, en Dakota du Sud et au Texas) (McLintock, 1976; Morris, 1988; Calisher, 1994).

Ce virus est maintenu enzootiquement par les oiseaux sauvages, principalement les passereaux, et par les moustiques (McLean *et al.*, 1985). Parmi les espèces de moustiques desquelles le virus a été isolé, la plus fréquemment infectée (>80%), en Amérique du Nord, est *Culiseta melanura* (McLean *et al.*, 1985; Scott et Weaver, 1989). Cette espèce principalement ornithophile est présente au Québec (Maire et Aubin, 1980).

En Floride, entre 1987 et 1990, lors d'une étude sur les arbovirus, 3 sérums d'écureuils gris sur 170 ont réagi positivement à l'inhibition de l'hémagglutination pour le virus de l'EEE (Day *et al.*, 1996). Le rôle des sciuridés dans le cycle épidémiologique de ce virus n'est pas connu.

Il a été démontré expérimentalement que les campagnols, marmottes et lapins (ordre des rongeurs) sont hautement sensibles aux virus EEE et meurent à la suite d'une infection (Morris, 1988).

Le cycle de transmission implique un vecteur hématophage, principalement des moustiques, bien que le virus a été retrouvé chez des mouches noires et des mites (Scott et Weaver, 1989). L'humain et le cheval sont des hôtes accidentels et ne

développeraient pas une virémie suffisante pour infecter un autre vecteur et entretenir ainsi le cycle du virus dans la nature (Acha et Szyfres, 1989). Des tortues, des serpents, des bovins, des porcs, des hamsters et des poissons ont été infectés expérimentalement ou naturellement (Morris, 1988).

2.4.2 Virus Sin Nombre

2.4.2.1 Historique et étiologie

En mai 1993, dans le sud-ouest des États-Unis, l'investigation de plusieurs décès dus à un syndrome pulmonaire à progression rapide, mène à l'identification d'un nouvel hantavirus (Chapman et Khabbaz, 1994; Hjelle *et al.*, 1995). Les hantavirus étaient déjà connus en Asie et en Europe où ils causent des fièvres hémorragiques avec syndrome rénal mais jamais auparavant ils n'avaient été associés à un syndrome pulmonaire prédominant et sévère. De plus, il s'agissait de la première mention d'une infection humaine causée par un hantavirus en Amérique du Nord.

Les hantavirus appartiennent à la famille des Bunyaviridae. Ces virus possèdent un génome composé de trois brins simples d'ARN (acide ribonucléique) entourés d'une nucléocapside et d'une enveloppe de lipides contenant deux glycoprotéines (Schmaljohn *et al.*, 1985). Cette enveloppe lipidique les rend d'ailleurs sensibles à la chaleur, à un pH acide, aux détergents, à la formaldéhyde et aux solvants des lipides (Centers for Disease Control and Prevention, 1993; Hjelle *et al.*, 1995). La durée de survie du virus dans l'environnement n'est pas connue (Centers for Disease Control and Prevention, 1993).

En 1996, on reconnaissait, sur une base génétique, au moins 4 hantavirus (Sin Nombre, Bayou, Black Creek Canal et New York) pathogènes pour l'être humain en Amérique du Nord. Cependant, la majorité des cas de syndrome pulmonaire à

hantavirus (SPH) reconnus à ce jour sont dus au virus Sin Nombre (Hjelle *et al.*, 1995; Hjelle *et al.*, 1996).

2.4.2.2 Maladie chez l'humain

Chez la plupart des humains exposés au virus Sin Nombre, l'infection est symptomatique. La période d'incubation se situe en moyenne entre 7 et 14 jours (4 à 42 jours). Le SPH se manifeste d'abord par une phase fébrile (prodromale) caractérisée par une forte fièvre, myalgie, maux de tête et douleurs abdominales accompagnés de nausées ou de vomissements. Cette phase dure en moyenne 5 à 6 jours mais peut s'échelonner sur 2 à 15 jours. Elle est suivie par une détérioration cardiopulmonaire progressive entraînant de la toux et des épisodes de dyspnée et de tachypnée. L'œdème pulmonaire non cardiogénique apparaît rapidement soit en quelques heures ou quelques jours après le début des premiers symptômes respiratoires et est accompagné de tachycardie et d'hypotension (Duchin *et al.*, 1994).

2.4.2.3 Incidence humaine et distribution géographique

Aux États-Unis, le 14 janvier 1998, on dénombrait 177 patients confirmés positifs au SPH. De ces 177, 39 ont été diagnostiqués rétrospectivement, c'est-à-dire ayant été atteints de la maladie avant sa découverte en mai 1993. L'âge moyen des patients était de 37 ans (étendue:11 à 69 ans) et le taux de mortalité de 45%. La distribution spatiale de ces 177 cas s'étend sur 29 états, la plus forte densité se retrouvant dans le Sud-Ouest des États-Unis (Young, 1998).

Le SPH ne semble pas relié à un sexe ou à une ethnie particulière. La maladie serait plutôt à caractère occupationnel, les risques de contracter la maladie étant plus élevés chez les personnes étant exposées fréquemment à des rongeurs, à leurs excréments ou sécrétions. Ceci expliquerait pourquoi en général les enfants et les personnes âgées

sont moins touchés par la maladie (Centers for Disease Control and Prevention, 1993).

Au Canada, 24 cas étaient déclarés en date du 19 janvier 1998 (6 en Colombie-Britannique, 15 en Alberta et 3 en Saskatchewan). La grande majorité des cas sont survenus au cours des quatre dernières années soit 8 cas en 1994, 3 en 1995, 3 en 1996 et 6 en 1997. Au Québec, aucun cas humain n'a été rapporté à ce jour (Artsob, H., communication personnelle, 1998).

2.4.2.4 Sources d'infection et modes de transmission

Contrairement aux autres Bunyaviridae, les hantavirus n'ont été associés à aucun vecteur arthropode. Chaque sérotype possède un hôte réservoir spécifique de l'ordre des rongeurs (familles des Muridae et des Cricetidae), la souris sylvestre (*Peromyscus maniculatus*) étant le réservoir du virus *Sin Nombre* (Childs *et al.*, 1994). Cette souris occupe une vaste variété de niches écologiques à travers presque toute l'Amérique du Nord et vit habituellement à proximité et à l'intérieur des résidences humaines, dans les régions rurales et semi-rurales (Chapman et Khabbaz, 1994). Cette constatation porte les spécialistes à croire que le virus responsable du SPH est un agent zoonotique saisonnier, largement distribué et responsable d'infections humaines sporadiques et d'épidémies. Ces épidémies sont associées à des fluctuations dans la population des rongeurs liées à des changements météorologiques et environnementaux (Parmenter *et al.*, 1993; Chapman et Khabbaz, 1994)

La littérature rapporte également de nombreux exemples d'espèces animales chez qui on a détecté des anticorps contre différents sérotypes d'hantavirus (Tableau 1).

Tableau I Familles de mammifères pour lesquelles une évidence sérologique d'exposition à des hantavirus a été démontrée en Amérique du Nord

Ordre	Famille	Références
Rodentia	Cricetidae	Childs <i>et al.</i> , 1988; Korch <i>et al.</i> , 1989; Childs <i>et al.</i> , 1994; Turell <i>et al.</i> , 1995; Otteson <i>et al.</i> , 1996.
	Muridae	Childs <i>et al.</i> , 1988; Korch <i>et al.</i> , 1989; Childs <i>et al.</i> , 1994
	Sciuridae	Childs <i>et al.</i> , 1994; Otteson <i>et al.</i> , 1996.
Carnivora	Canidae	Childs <i>et al.</i> , 1988.
	Felidae	Childs <i>et al.</i> , 1988.
	Mustelidae	Childs <i>et al.</i> , 1988.
	Procyonidae	Childs <i>et al.</i> , 1988.
Insectivora	Soricidae	Childs <i>et al.</i> , 1988.
Lagomorpha	Leporidae	Childs <i>et al.</i> , 1994.

En 1995, au Québec, la séroprévalence (test ELISA) du hantavirus Sin Nombre chez la souris sylvestre a été démontrée dans les régions de Jonquière (3,3%), du Mont-Mégantic (6,1%), du Parc du Mont-Tremblant (12,4%), de la Gaspésie-Iles-de-la-Madeleine (13,5%) et de l'Abitibi (17,4%). La recherche d'acide nucléique de l'hantavirus par la réaction en chaîne de polymérisation (PCR) (Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta) a démontré que deux souris séropositives étaient positives également par la technique PCR. L'analyse moléculaire a permis d'établir que le virus retrouvé chez ces souris est apparenté au virus Sin Nombre. Il a d'abord été désigné sous le nom d'"Eastern Sin Nombre-like hantavirus" puis plus récemment sous celui de Monongahella. Ce dernier aurait causé quelques cas de SPH dans l'est des États-Unis (Artsob, H. et M. Couillard, communication personnelle, 1996).

L'infection à hantavirus chez un hôte réservoir est asymptomatique et consiste en une virémie de courte durée suivie d'une dissémination du virus dans différents tissus, particulièrement les poumons, les glandes salivaires et les reins (Lee *et al.*, 1981a;

Lee *et al.*, 1981b; Yanagahira *et al.*, 1985a; Kariwa, 1996). Les rongeurs excrètent le virus de façon chronique dans la salive, l'urine et les fèces malgré le développement d'anticorps neutralisants (Lee *et al.*, 1981b; Yanagihara *et al.*, 1985b; Yamada *et al.*, 1995). L'infection est maintenue enzootique au sein de la population par un contact direct avec les sécrétions (salive, urine, fèces), lors du toilettage ou de morsures, donc par transmission horizontale. Une transmission verticale n'a pas été démontrée (Lee *et al.*, 1981a; Lee *et al.*, 1981b; Yanagahira *et al.*, 1985b). La prévalence de l'infection chez les hôtes réservoirs est directement liée à des changements de densité dans la population qui ont des effets significatifs sur les taux de transmission et la fréquence d'infection (Parmenter *et al.*, 1993)

Le risque de contracter une infection à hantavirus pour l'humain est généralement fonction de la densité locale de la population du rongeur réservoir, de la prévalence d'infection chez le rongeur et de la fréquence de pratique d'activités favorisant un contact entre l'humain et les aérosols provenant de la salive, des fèces ou de l'urine des rongeurs infectés. Ces activités incluent principalement les opérations de déforestation, les travaux agricoles, le nettoyage de bâtiments infestées par des rongeurs, le piégeage, le camping et la randonnée dans des régions à risque.

La plus importante voie d'entrée est donc le système respiratoire, lorsque l'humain, en pratiquant ces activités, soulève des poussières contaminées par de l'urine ou des excréments qui contiennent du virus (Centers for Disease Control and Prevention, 1993). L'humain peut aussi possiblement s'infecter lorsqu'il y a pénétration de matériel contaminé par des sécrétions de rongeurs, dans une blessure ou les yeux ou lors d'ingestion d'eau ou de nourriture contaminée. Des gens ont aussi été infectés après avoir été mordus par un rongeur (Tsai, 1987). La transmission du virus d'un humain à un autre n'a jamais été rapportée mais lors d'une épidémie survenue en

Argentine en 1996, la transmission horizontale entre une patiente et le médecin traitant a été fortement suspectée (Wells *et al.*, 1997).

2.4.3 Virus Powassan

2.4.3.1 Historique et étiologie

Le virus Powassan (POW) est un *Flavivirus* (groupe B des arbovirus), famille des Togaviridae. Malgré son appartenance au même groupe viral que le virus SLE, le virus POW possède une relation sérologique plus particulière avec les *Flavivirus* d'Europe et d'Asie (Artsob, 1989; Calisher, 1994)

Le premier isolement de ce virus remonte en 1958, quand un enfant de 5 ans est mort des suites d'une encéphalite. Le virus a été isolé du cerveau de la victime et nommé d'après son lieu de résidence: Powassan (nord de l'Ontario) (Artsob, 1989).

2.4.3.2 Maladie chez l'humain

Le syndrome classique d'une infection au virus POW débute par une fièvre subite et des convulsions, suivies par des maux de gorge, de la léthargie, des céphalées et de la désorientation. L'encéphalite entraîne des vomissements, de la détresse respiratoire, une fièvre continue et la paralysie est possible. Le taux de mortalité est de 10,5% et des séquelles sont observées chez 47,1% des patients (Acha et Szyfres, 1989; Artsob, 1989; Calisher, 1994).

2.4.3.3 Incidence humaine et distribution géographique

La présence du virus POW (isolement et/ou sérologie) a été rapportée aux États-Unis, au Canada, au Mexique et en Russie (Acha et Szyfres, 1989). De 1958 à 1981, 19 cas d'encéphalites au virus POW ont été diagnostiqués aux États-Unis et au Canada. De 1958 à 1994, le Canada a rapporté 14 encéphalites associées à cet arbovirus. De

ces 14 cas, 6 provenaient du Québec, 6 de l'Ontario, 1 du Nouveau-Brunswick et 1 de la Nouvelle-Écosse (Artsob, 1989; Centers for Disease Control and Prevention, 1995).

D'après l'épidémiologie des 19 cas humains, le risque de contracter une infection au virus POW serait plus élevé de mai à décembre avec un pic de juin à septembre (correspondant à la saison des tiques) (Calisher, 1994; Artsob, 1989).

De 1966 à 1977, une étude américaine a tenté de démontrer le rôle des arbovirus chez les patients atteints d'encéphalites ou de méningites virales. Sur 2963 patients avec des signes cliniques d'infection du système nerveux central, 8 (0,27%) avaient des anticorps contre le virus POW (Deibel *et al.*, 1979).

Une étude sur la séroprévalence humaine des infections arbovirales au Québec (Montréal, Trois-Rivières, Cantons de l'Est, Québec, Chicoutimi, autres régions) dans les années 1971-1974 a rapporté une proportion de 2,4% (n=4986) de résidents (adultes volontaires ou patients de cliniques de plus de 15 ans d'âge) ayant des anticorps aux virus POW et /ou autres *Flavivirus* (Banzi, Modoc, Montana Myotis Leukoencephalitis et SLE). Cependant, aucune réaction d'inhibition de l'hémagglutination à l'antigène POW utilisé seul n'a été obtenue. L'auteur concluait donc qu'il était impossible de démontrer clairement une exposition au virus POW chez cette population québécoise (Artsob *et al.*, 1980). Une autre étude québécoise menée dans les années 1974 à 1978 dans la région de Trois-Rivières a rapporté une séropositivité au virus POW par la technique d'inhibition de l'hémagglutination pour 9 (0,35 %) des sérums humains testés (n=2554). Cependant, 3 de ces sérums ont également réagi à l'antigène SLE (Belloncik *et al.*, 1983).

2.4.3.4 Sources d'infection et modes de transmission

La présence du virus POW (anticorps et isolement viral) a été confirmée chez 38 espèces de mammifères de l'Amérique du Nord. Au Canada, le virus a été isolé, en Ontario, de tiques et/ou de vertébrés (Artsob, 1989). Il y a également des évidences sérologiques de sa présence dans plusieurs provinces (McLean *et al.*, 1970; Embree *et al.*, 1976; Zarnke et Yuill, 1981; Fitch et Artsob, 1990). Les hôtes vertébrés les plus susceptibles d'être des réservoirs incluent les marmottes, les écureuils, les mouffettes, les porc-épics, les lièvres, les belettes, les ratons laveurs et les tamias (Acha et Szyfres, 1989; Artsob, 1989; Calisher, 1994).

Deux études canadiennes (Ontario) et une étude américaine (New-York) ont rapporté la présence d'anticorps neutralisants chez 33,3 à 83,3 % des écureuils gris; la grandeur des échantillons variant de 2 à 6 individus (McLean *et al.*, 1964; McLean *et al.*, 1967; Whitney *et al.*, 1968).

L'infection expérimentale d'écureuils gris adultes avec le virus POW a démontré que cette espèce développe une virémie pouvant persister jusqu'à huit jours. Un écureuil a été trouvé mort huit jours après l'inoculation et le virus a été isolé de ses reins. L'auteur a émis l'hypothèse qu'une infection rénale chronique chez cette espèce pourrait agir comme mécanisme de survie du virus en l'absence de vecteur. L'expérience a également démontré que cette infection s'avère fatale chez les écureuils nouveau-nés (Timoney, 1971).

Le cycle de transmission du virus POW implique un vecteur hématophage. L'humain s'infecte donc suite à une piqûre d'insecte, principalement des tiques de l'espèce *Ixodes cookei*. Cette tique se distribue largement dans l'Est de l'Amérique du Nord et

se retrouve sur plusieurs vertébrés, plus particulièrement les mammifères (Acha et Szyfres, 1989; Artsob, 1989).

2.4.4 *Francisella tularensis*

2.4.4.1 Historique et étiologie

Le premier isolement de la bactérie *Francisella tularensis*, l'agent causal de la tularémie, remonte en 1911 lorsque McCoy a rapporté une maladie semblable à la peste chez 46 spermophiles de Californie (*Spermophilus beecheyi*, famille des sciuridés) (Bell et Reilly, 1981; Evans *et al.*, 1985).

Cette bactérie Gram-négative et pléomorphe peut survivre jusqu'à 3-4 mois dans la boue, l'eau et les carcasses en décomposition (Rohrbach, 1988). Elle est divisée en 2 sous-espèces, soit le type A (*F. tularensis* var *tularensis*) et le type B (*F. tularensis* var *palaeartica*). Le type A serait responsable de 70 à 90 % des infections humaines en Amérique du Nord et affecte surtout les lagomorphes. Le type B se distribue mondialement (sauf en Australie et en Antarctique) et affecte surtout les rongeurs. Sa virulence est moindre que celle du type A pour les humains et les lagomorphes (Bell et Reilly, 1981; Rohrbach, 1988; Acha et Szyfres, 1989). Ces deux types sont antigéniquement similaires, leur différences se situant au niveau épidémiologique et biochimique (Rohrbach, 1988).

2.4.4.2 Maladie chez l'humain

La période d'incubation chez l'humain est en moyenne de 3 à 5 jours. Chez plusieurs personnes, la maladie serait bénigne ou asymptomatique, ce qui peut entraîner une sous-estimation de sa véritable incidence. Classiquement, les personnes affectées souffrent de fièvre, de frissons, d'asthénie, de céphalées, de toux, de douleurs articulaires et musculaires et de vomissements. Cinq formes cliniques distinctes

peuvent être rencontrées, habituellement déterminées par la voie d'entrée de la bactérie. La forme ulcéro-ganglionnaire est diagnostiquée chez 75 à 85 % des patients. Les autres entités cliniques rencontrées sont les formes typhique, oculo-ganglionnaire, pulmonaire et oro-pharyngée (Evans *et al.*, 1985; Rohrbach, 1988; Acha et Szyfres, 1989).

2.4.4.3 Incidence humaine et distribution géographique

La tularémie se distribue à travers l'Amérique du Nord (sauf Hawaï). Aux États-Unis, de 1978 à 1987, le nombre annuel de cas a varié entre 141 (en 1978) et 310 (en 1984), la plupart des cas rapportés se distribuant en Arkansas, au Missouri et en Oklahoma (Taylor *et al.*, 1991). Deux épidémies ont également eu lieu, la première en 1946 au Tennessee avec 50 cas rapportés et la seconde, en 1968 au Vermont avec 46 cas. L'épidémie de 1968 a été associée au piégeage ou à la manipulation de rats musqués (*Ondatra zibethicus*) (Young *et al.*, 1969; Evans *et al.*, 1988). Au Canada, entre 1931 et 1979, 268 cas ont été rapportés (Bruce, 1978; Acha et Szyfres, 1989).

Au Québec, neuf cas d'infections humaines ont été rapportés en 1967, dans les régions de Rimouski, Charlevoix et la Beauce. Les infections étaient associées au lièvre (*Lepus americanus*) pour huit de ces cas et à des moustiques pour le neuvième cas. En 1969, deux trappeurs ont été contaminés par un rat musqué à l'embouchure de la rivière Richelieu et du fleuve St-Laurent (Gattereau *et al.*, 1970). En 1978, cinq adolescents ayant piégé le rat musqué sur la Rive-Sud de Montréal ont contracté la tularémie (Ford-Jones *et al.*, 1982).

En 1992-93, une étude sur la séroprévalence de 3 agents de zoonoses chez des trappeurs québécois de la région de Québec, a révélé un taux d'anticorps positifs ($\geq 1/20$) contre *F. tularensis* chez 2% des sujets (n=165). Une association a été faite

entre le nombre de rats musqués piégés (≥ 100) et le risque de contamination par l'agent de la tularémie (Lévesque *et al.*, 1995). Ces données suggèrent fortement que la tularémie est une maladie endémique au Québec.

En Amérique du Nord, la distribution des cas humains suit une courbe bimodale avec un pic en juillet (correspondant à la saison des tiques) et un en décembre (coïncidant avec la saison de la chasse) (Evans *et al.*, 1985).

2.4.4.4 Sources d'infection et modes de transmission

La maladie affecterait plus d'une centaine d'espèces de vertébrés et d'invertébrés. Cependant, les tiques, les lagomorphes et les rongeurs (rats musqués et castors) sont les espèces les plus souvent incriminées dans la transmission de *F. tularensis* aux humains en Amérique du Nord (Burroughs *et al.*, 1944; Hopla, 1974; Bell et Reilly; 1981; Rohrbach, 1988; Acha et Syfres, 1989).

Une étude américaine publiée en 1975, tendait à démontrer qu'une néphrite chronique, causée par *F. tularensis* chez les rongeurs, entraînerait une bactériurie qui pourrait être responsable de la contamination des cours d'eau et par le fait même d'autres espèces animales (Bell et Stewart, 1975). Des expériences en laboratoire ont démontré que la plupart des rongeurs et des lagomorphes sont très sensibles à la bactérie et sont en général atteints de la forme septicémique fatale. Ils constituent une source d'infection pour les arthropodes, les autres animaux, l'homme et l'environnement (Acha et Szyfres, 1989).

Au Canada, dans les années 1930 et 1940, la plupart des cas de tularémie chez l'humain étaient associés aux lagomorphes alors que depuis une trentaine d'années, le

rat musqué est de plus en plus incriminé dans les infections humaines (Martin *et al.*, 1982).

La présence de la tularémie chez les sciuridés a été démontrée à plusieurs reprises (sérologie et/ou isolement) mais son association à des infections humaines est plutôt rare (Burroughs *et al.*, 1944; Hopla, 1974; Bruce, 1978; Bell et Reilly; 1981). Cependant, dans un zoo de Winnipeg, plusieurs cas de tularémie chez des primates en captivité auraient été causés par un spermophile de Franklin (*Spermophilus franklinii*) ou par ses puces (*Orchopeas* spp.). Par la suite, le vétérinaire du zoo a été infecté par un des primates atteints (Nayar *et al.*, 1979; Preiksaitis *et al.*, 1979). La littérature rapporte également un cas de tularémie chez une fillette de 16 mois qui avait été mordue par un écureuil gris (*Sciurus carolinensis*) gardé comme animal de compagnie par la famille (Magee *et al.*, 1989). Dans les territoires du Nord-Ouest, une femme autochtone et son garçon de 4 ans ont contracté la tularémie après avoir dépouillé de leur peau des carcasses d'écureuils roux (*Tamiasciurus hudsonicus*) (MacKinnon, 1947). Selon Bruce (1978) et Hopla (1974), les sciuridés joueraient un rôle prédominant dans l'épidémiologie de la tularémie en infectant des espèces plus susceptibles.

La transmission à l'être humain se fait par plusieurs routes. La plus commune est percutanée, soit par des arthropodes hématophages, des égratignures ou coupures en contact avec du matériel contaminé ou par des morsures ou griffures d'animaux malades. La conjonctive est une autre possibilité (éclaboussure, mains souillées) de même que les voies respiratoires par inhalation d'aérosols contaminés. La contamination par voie orale a lieu par ingestion d'eau contaminée (carcasses, urine ou fèces d'animaux atteints dans les cours d'eau) ou de viande contaminée,

insuffisamment cuite. La transmission d'humain à humain est extrêmement rare (Evans *et al.*, 1985; Rohrbach, 1988; Acha et Szyfres, 1989).

2.4.5 *Leptospira interrogans*

2.4.5.1 Historique et étiologie

L'agent étiologique de la leptospirose, *Leptospira interrogans*, a été cultivé pour la première fois en 1915. Cependant, l'entité clinique était connue depuis 1886 (Heath *et al.*, 1965). Les leptospires sont des bactéries appartenant à l'ordre des spirochètes et leur classification est basée sur leurs caractères antigéniques (sérovars). La plupart des sérovars pathogènes sont regroupés dans l'espèce *Leptospira interrogans*. Au Québec, les sérovars de cette espèce les plus fréquemment rencontrés sont: Pomona, Hardjo, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa et Bratislava (Larivière et Higgins, 1993).

2.4.5.2 Maladie chez l'humain

La période d'incubation est d'environ une à deux semaines. Chez certaines personnes la maladie est asymptomatique. Chez ceux présentant des signes cliniques, deux entités différentes sont rencontrées. Dans la forme la plus commune (85-90 % des cas), le patient présente des signes d'atteinte systémique (fièvre, céphalée, myalgie, prostration et parfois collapsus circulatoire). Cependant, il n'y a pas d'ictère et la maladie est, dans la plupart des cas, auto-limitante. Une méningite aseptique est quelquefois rencontrée. La seconde entité clinique, la leptospirose ictérique, est caractérisée par des signes d'atteinte hépatique, rénale et vasculaire (Farr, 1995; Vinetz *et al.*, 1996). Le pourcentage de mortalité pour cette forme est d'environ 5 à 10 % (Santé et Bien-Être Social Canada, 1989).

2.4.5.3 Incidence humaine et distribution géographique

La répartition géographique de la leptospirose est mondiale. Cependant, certains sérovars ne se retrouvent que dans des régions spécifiques. Une forte prévalence de cette maladie est observée dans les régions tropicales qui réunissent les conditions environnementales (forte humidité, sol neutre ou légèrement alcalin) nécessaires à sa survie (Acha et Szyfres, 1989; Vinetz *et al.*, 1996)

Depuis 1995, la leptospirose n'est plus une maladie à déclaration obligatoire aux États-Unis (Vinetz *et al.*, 1996). Pour ce pays, l'incidence cumulative annuelle est de 0,05 cas par 100 000 habitants (Farr, 1995). En ce qui concerne le Canada, de 1966 à 1978 et de 1980 à 1989, entre 0 et 7 cas de leptospiroses ont été rapportés annuellement. L'incidence réelle est toutefois sous-estimée puisque seuls les cas hospitalisés sont signalés (Santé et Bien-Être Social Canada, 1989).

En 1992-1993, une étude québécoise sur la séroprévalence de trois agents de zoonoses chez des trappeurs de la région de la ville de Québec a révélé la présence d'anticorps ($\geq 1/50$) dirigés contre *L. interrogans* (sérovars Bratislava, Hardjo et Icterohaemorrhagiae) chez 9,1 % des sujets (n=165) (Lévesque *et al.*, 1995).

2.4.5.4 Sources d'infection et modes de transmission

La présence de la bactérie a été démontrée chez plus de 160 mammifères à travers le monde. Des chercheurs l'auraient également isolé de reptiles, amphibiens, poissons, oiseaux et invertébrés (Farr, 1995). Chaque sérovar possède en général un hôte spécifique mais une même espèce animale peut être l'hôte de plusieurs sérovars différents.

En ce qui concerne les sciuridés, la littérature rapporte une étude menée dans les années 1970 en Floride et en Géorgie, dans laquelle on n'a pu démontrer la présence d'anticorps sériques contre la bactérie *L. interrogans* (12 sérovars testés) chez 21 écureuils gris. Cependant, les chercheurs ont cultivé la bactérie (sérovar Ballum) à partir des reins d'un écureuil (n=26) (Shotts *et al.*, 1975).

Au Québec, des études ont démontré que la leptospirose était endémique dans les populations bovine et porcine. Le sérovar Pomona serait le plus répandu chez ces espèces (Higgins *et al.*, 1975; Higgins et Cayouette, 1978; Higgins *et al.*, 1980a,b). Dans les années 1990, une femelle raton laveur (*Procyon lotor*) a été trouvée morte dans un parc urbain de la ville de Montréal et soumise à un examen post-mortem. La technique d'immunofluorescence effectuée sur des organismes filamenteux logés dans les tubules rénaux a révélé une forte réaction au sérovar Bratislava et une faible réaction au sérovar Pomona (Mikaelian *et al.*, 1997).

Généralement, les animaux sauvages ne développent aucun signe clinique suite à la pénétration de cet agent pathogène dans leur organisme. Toutefois, cette bactérie peut causer différentes manifestations cliniques chez les animaux domestiques surtout (Acha et Szyfres, 1989; Larivière et Higgins, 1993).

La transmission à l'être humain se fait par contact direct ou indirect avec de l'urine d'animaux infectés. Les principales voies d'entrée sont la peau, les muqueuses du nez, la bouche et la conjonctive. Les activités les plus à risques sont de types récréationnel (baignade dans des cours d'eau contaminés, etc.) et occupationnel (vétérinaire, agriculteur, etc.) (Acha et Szyfres, 1989; Heath et Johnson, 1994; Vinetz *et al.*, 1996). Cependant, la leptospirose peut être transmise sporadiquement en milieu urbain. En effet, Vinetz *et al.* (1996) ont rapporté trois cas de leptospirose en

milieu urbain (Baltimore, Maryland) chez des personnes n'ayant pas été exposées à des animaux d'élevage ou de compagnie. Des rats étaient la source d'infection de ces trois cas (deux des patients avaient marché pieds nus dans les rues de la ville et le troisième s'était coupé la main avec de la vitre et ce dans des lieux fréquentés par des rats).

3. MATÉRIELS, MÉTHODES ET RÉSULTATS

Côté, Bélanger, Couillard and Artsob. Seroepidemiologic study on zoonosis of the grey squirrel in Montreal.

Seroepidemiologic study on viral and bacterial zoonotic agents of the grey squirrel (*Sciurus carolinensis*) in Montreal, Quebec.

Geneviève Côté, Département de Pathologie et Microbiologie, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, St-Hyacinthe, Québec, J2S 7C6, Canada

Denise Bélanger, Département de Pathologie et Microbiologie, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, St-Hyacinthe, Québec, J2S 7C6, Canada

Michel Couillard, Sérodiagnostic et virologie, Laboratoire de santé publique du Québec, Ste-Anne-de-Bellevue, Québec, H9X 3R5, Canada.

Harvey Artsob, Zoonotic Diseases, Federal Laboratories, Health Canada, Winnipeg, Manitoba, R3E 3P6, Canada.

Proofs should be sent to: Denise Bélanger, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, C.P. 5000, St-Hyacinthe, Québec, J2S 7C6, Canada.

ABSTRACT: Sera of 156 grey squirrels (Sciurus carolinensis), captured from August to November 1996 and May 1997 in three central urban parks of Montreal were screened for the presence of antibodies against Sin Nombre, eastern equine encephalitis and Powassan viruses as well as several serovars of Leptospira interrogans and Francisella tularensis. Evidence for the presence of these infections was not found with any of these pathogenic agents. Although grey squirrel seems at low risk of transmitting these zoonotic diseases, people should avoid feeding these rodents to reduce cases of bites and problems related to overpopulation.

Keywords: serologic survey, zoonosis, hantavirus, arbovirus, Leptospira interrogans, Francisella tularensis, grey squirrel, Sciurus carolinensis.

INTRODUCTION

Among wild animals having contacts with humans in urban area, the situation of the grey squirrel is outstanding, characterized by a high population density (ranging from 20,04 to 34,14 squirrels/ha in Lafontaine park, Montreal and from 22,75 to 51,50 squirrels/ha in Lafayette park, Washington) and by the close companionship that several individuals have developed with urban dwellers (Lachapelle, 1996; Manski *et al.*, 1981). Previous studies have reported that grey squirrel can transmit tularemia and sporotrichosis to human through bites (Magee *et al.*, 1989; Saravanakumar *et al.*, 1996).

Furthermore, this rodent is suspected to contribute to the epidemiology of LaCrosse virus (Ksiazek and Yuill, 1976), Powassan virus (POW) (McLean *et al.*, 1964; McLean *et al.*, 1967; Withney *et al.*, 1968), Leptospira interrogans (Shotts *et al.*, 1975), Rickettsia rickettsii (Sonenshine *et al.*, 1977), Borrelia burgdorferi (Godsey *et al.*, 1987), St-Louis encephalitis and eastern equine encephalitis viruses (EEE) (Day *et al.*, 1996). Considering the particular niche of the grey squirrel and the fact that little is known about the role played by this rodent in many zoonosis reported in Quebec, the investigation of potential transmission of pathogenic agents from this rodent population to humans and their pets has public health implications.

Therefore, the main objective of this study was to evaluate the presence of viral (Sin Nombre, eastern equine encephalitis, Powassan) and bacterial (Francisella tularensis, Leptospira interrogans) zoonotic agents in the grey squirrel in a metropolitan area. The secondary objective was to document the possible occurrence of ticks on this rodent.

MATERIALS AND METHODS

Observational transversal study was selected to estimate the prevalence of the zoonotic agents mentioned previously. The sample size needed to detect a prevalence of 10 % (precision: 5 %, confidence level: 95 %) was 138 (Lwanga and Lemeshow, 1991).

Grey squirrels were captured from August to November 1996 and in May 1997, in three central urban parks of the Montreal island (Lafontaine, Maisonneuve-Rosemont, Mont-Royal), where this rodent is known to abound and where people feed them almost every day. Animals were trapped by using Tomahawk #103 live

traps (Tomahawk Live-Trap Company, Tomahawk, Wisconsin, USA), baited with peanut butter. Early in the morning, twenty traps were distributed at the bottom of trees, on a section of the park of about 9000 m². A new section was covered every day. After the capture, the rodents were released into a restraining cage Tomahawk #305 SQ to facilitate handling and anesthetized with ketamine hydrochloride (30 mg) and xylazine (1 mg). Blood was collected by cardiac puncture (2ml). Animals were sexed, measured and weighed (Pesola scale). Juveniles were identified on the basis of body mass, condition of the pelage, examination of the ventral surface of the tail and by the lack of breeding conditions (Wildlife Techniques Manual Committee, 1969). The skin was examined for ticks by vigorously brushing the squirrels. Rodents were identified with a numbered ear tag (National Band and Tag Company, Newport, Kentucky, USA) and then released at the capture site after recovery from anesthesia.

Sera were centrifugated at 3000g RPM for 15 minutes and frozen at -70°C until serological analyses were performed. All the serological tests were performed at the Laboratory Center for Disease Control (Ottawa, Ontario) except for tularemia which was done at the "Laboratoire de santé publique du Québec" (Ste-Anne-de Bellevue, Québec).

ELISA test was undertaken to detect IgG antibodies against Sin Nombre virus using a recombinant nucleocapsid antigen as described elsewhere (Childs *et al.*, 1994). Any serum having a titer $\geq 1:400$ was considered positive.

Hemagglutination inhibition test was performed to detect antibodies against hemagglutinin in EEE and POW viruses. The tests were performed on kaolin treated sera (Clarke and Casals, 1958) as modified to a microtiter technique (Sever, 1962).

Sera positive after kaolin treatment were subsequently confirmed by acetone extraction before considering them as valid HI positives.

The microscopic agglutination test was used (Cole *et al.*, 1973) to detect antibodies against *L.interrogans* serovars Autumnalis, Ballum, Canicola, Grippotyphosa, Hardjo, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Tarassovi. Results were interpreted as positive if antibody titers were $\geq 1/50$.

Detection of antibodies to *Francisella tularensis* was done by the tube agglutination test using BBL febrile *F. tularensis* antigens (Becton and Dickinson and Company, Cockeysville, Maryland, USA). A titer $\geq 1:20$ was considered positive. Titers are reported as the highest final dilution producing a 2+ agglutination after an incubation period of 20 hours at 37°C.

Descriptive statistics were compiled using SAS (SAS Institute Inc., box 8000, SAS circle cary, North Carolina, USA) for the personal computer.

RESULTS

Lafontaine and Maisonneuve-Rosemont parks were trapped throughout. As for Mont-Royal park, considering its dimensions, only the areas with high squirrel activity were sampled. A total of 156 squirrels were captured of which 80 were female and 76 male. Ninety-seven were adults and 59 juveniles. The distribution of captures are summarized in Table 1. More than 40% of the adult squirrels were weighing 700 grams and over.

All sera were negative for antibodies to Sin Nombre, EEE, and POW viruses and for *F. tularensis* and *L. interrogans*. According to a formula by Cannon and Roe (1982), the size of our study population was sufficient to allow, with 95% confidence, that at most 1,9% of the squirrels of Montreal's central parks were infected at the time of the survey. In order to compute sensitivity and specificity at the population level, conservative estimates of test sensitivity and specificity (0,8; 0,8) were used, since these values are not specifically known for the grey squirrel. The resulting group level specificity and sensitivity were close to zero and one, respectively (at a confidence level of 95%) (Martin *et al.*, 1992). Therefore, the assumption that this population is exempt of the agents is well founded.

No ticks were detected on the 156 squirrels examined but several subjects were infested with fleas (*Cediopsulla simplex*). All squirrels were free of any external clinical signs of disease.

DISCUSSION

Serologic evidence of hantavirus has been reported in the Sciuridae family, but never in the grey squirrel (Childs *et al.*, 1988; Korch *et al.* 1989; Childs *et al.*, 1994; Otteson *et al.*, 1996). In several areas of Quebec, the presence of a Sin Nombre-like virus in *Peromyscus maniculatus* was confirmed in 1995, but no human cases have been reported to date (M. Couillard and H. Artsob, unpublished data). Therefore, hantaviruses might be absent in the Montreal central area, the grey squirrel might not constitute a competent rodent host, or the proportion of individuals infected is at a sufficiently low level to be undetected with our sampling strategy.

Investigation of the possible presence of antibodies against EEE was performed to establish the role of the grey squirrel as intermediate or accidental host. The negative

results are not so surprising since the presence of this virus has been reported only once in Quebec in 1972, in the Eastern township near the United States border, where it killed thirty horses. The hypothesis was that the virus could have been brought in Quebec by infected mosquitoes carried on surface winds (Bellavance *et al.*, 1985; Sellers, 1989). Moreover, experimental infection of rodents (voles, woodchucks and cottontail rabbits) has shown a high sensitivity to EEE usually resulting in death, leaving few survivors with antibodies (Morris, 1988).

POW antibodies were not found in any of the sera tested. Other studies have reported a prevalence ranging from 33,3% to 83,3% for POW antibodies in the grey squirrel in Ontario and New York (McLean *et al.*, 1964; McLean *et al.*, 1967; Whitney *et al.*, 1968). Although POW is endemic in Quebec (Artsob, 1989; Calisher, 1994), we found no evidence of its principal vector (*Ixodes*) in captured animals but the months of sampling were not corresponding to the peak season for ticks (june-july). The absence of this vector is reducing the risk of viral transmission to human. Furthermore, the particular geographic situation of these three parks may make the transmission of this virus difficult because the diversity of wildlife is somewhat lower than in other settings. The same explanation holds for tularemia.

Leptospire are usually found in mud and water contaminated with urine (Bourque and Higgins, 1984). The principal arboreal activity of the grey squirrel might make it less exposed to this bacterium. In the mid-nineties, a one year-old pregnant female raccoon was found dead in an urban park of Montreal. The necropsy revealed filamentous organisms in a few renal tubules which strongly reacted with monoclonal antibodies to serovar Bratislava and weakly to serovar Pomona using the immunofluorescence technique (Mikaelian *et al.*, 1997). Despite this report of the presence of leptospirosis in Montreal, no evidence of exposure of the grey squirrel to

this microorganism was found. However, the persistence of antibodies after an infection with leptospire in the grey squirrel is unknown, but rats chronically infected with *L. interrogans* are suspected to become seronegative, leading perhaps to some false negative results (Vinetz et al., 1996).

According to Flyger and Gates (1981), grey squirrels are often infested by ectoparasites. Fleas, frequently found in tree cavities and den boxes, have been reported on many occasions on this host (Wilson et al., 1991). The absence of ticks, as mentioned earlier, could be due to the months of sampling. Also, the use of pesticides and the maintenance of grass in the parks sampled do not probably favor the presence of ticks. As far as we know, this is the first study on the prevalence of these zoonosis in a Montreal wildlife population. In the few studies reported in the literature on the zoonosis of the grey squirrel, many have been done with non representative sample size and in non urban area. The Jacksonville survey (Florida, 1974), is an exceptional urban one, which consists in blood sampling 180 grey squirrels. All sera were reported negative for antibodies to *F. tularensis*, *L. interrogans*, enteric bacteria, rickettsial agents, eastern and Venezuelan equine encephalitis viruses and for St-Louis and LaCrosse encephalitis viruses (White et al., 1975). This study, along with the results of this latter one would suggest that the grey squirrel in urban area does not constitute a public health hazard in relation to the transmission of the zoonoses tested. However, little is known about the pathogenicity, persistence of antibodies and survival of squirrels after infection with these organisms. The serological tests have been used in several other species, and are known to have a very good sensitivity and specificity. However, they were not validated specifically for the grey squirrel. They therefore may not perform identically in the grey squirrel.

Considering these limitations, interpretation of results must therefore be done carefully. However, the size of the study population was sufficient to allow a conclusion, with 95% confidence, that no more than 1,9% of the squirrels of Montreal's central parks were infected at the time of the survey. Considering the high sensitivity at a population-level, the risk to the human population is quite low, if there is any.

More than 40% of the adults of this study were weighing between 700 and 840 grams. The comparison of this weight distribution with reported results in other studies (from 300 to 710 grams) (Koprowski, 1994) is likely a good indicator of the wellbeing of this population. This fact is also supported by the animal clinical exam.

Many studies tend to demonstrate that supplemental food in an animal population leads to an increase in density or rate of population growth (Gurnell, 1983; Boutin, 1989; Sullivan, 1990). Despite the negative results, people feeding squirrels are still at risk of being bitten or attacked by these rodents. This fact is not negligible if we consider that an overpopulation of squirrels, as in Lafontaine park, could facilitate an epidemic, if it started.

The extrapolation of the results to the entire island of Montreal seems hazardous since the ecology and the diversity of wildlife in other parks could vary significantly. Thus, the population of grey squirrels should be monitored periodically and in other settings to prevent the eventual introduction and propagation of a zoonotic disease. There is a need for more studies on the pathogenic potential of urban wildlife for humans and their pets.

Acknowledgments: Funding for this study was granted by the "Fonds du centenaire" of the Faculty of veterinary medicine, University of Montreal. We wish to thank the personnel of the Laboratory Centre for Disease Control and the "Laboratoire de santé publique du Québec", where the serological analyses were performed and finally the "Communauté urbaine de Montréal" for their collaboration.

LITERATURE CITED

- ARTSOB, H. 1989. Powassan encephalitis. *In* The arboviruses: epidemiology and ecology. T.P. Monath (ed), CRC Press, Boca Raton, Florida. IV: 29-49.
- BELLAVANCE, R., E. ROSSIER, M. LEMAÎTRE, N. G. WILLIS, AND P. BÉLANGER. 1985. Eastern equine encephalomyelitis in eastern Canada-1972. *Canadian Journal of Public Health* 64: 189-190.
- BOURQUE, M., AND R. HIGGINS. 1984. Serologic studies on brucellosis, leptospirosis and tularemia in moose (*Alces alces*) in Quebec. *Journal of Wildlife Diseases* 20: 95-99.
- BOUTIN, S. 1990. Food supplementation experiments with terrestrial vertebrates: patterns, problems, and the future. *Canadian Journal of Zoology* 68: 203-220.
- CALISHER, C. H. 1994. Medically important arboviruses of the United States and Canada. *Clinical Microbiology Reviews* 7: 89-116.
- CANNON, R. M. AND ROE, R. T. 1982. Livestock disease surveys: A field manual for veterinarians. Australian Bureau of Animal Health, Canberra, pp. 14-17.
- CHILDS, J. E., G. E. GLASS, G. W. KORCH, AND J. W. LEDUC. 1988. The ecology and epizootiology of hantaviral infections in small mammal communities of Baltimore: A review and synthesis. *Bulletin of the Society for Vector Ecology* 13: 113-122.

- CHILDS, J. E., T. G. KSIAZEK, C. F. SPIROPOULOU, J. W. KREBS, S. MORZUNOV, G. O. MAUPIN, K. L. GAGE, P. E. ROLLIN, J. SARISKY, R. E. ENSCORE, J. K. FREY, C. J. PETERS, AND S. T. NICHOL. 1994. Serologic and genetic identification of Peromyscus maniculatus as the primary reservoir of a new hantavirus in the Southwestern United States. *The Journal of Infectious Diseases* 169: 1271-1280.
- CLARKE, D. H., AND J. CASALS. 1958. Techniques for haemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 7: 561-573
- COLE J. R, C. R. SULZER, AND A. R. PURSELL. 1973. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. *Applied Microbiology* 25: 976-980.
- DAY, J. F., L. M. STARK, J.-T. ZHANG, A. M. RAMSEY, AND T. W. SCOTT. 1996. Antibodies to arthropod-borne encephalitis viruses in small mammals from Southern Florida. *Journal of Wildlife Diseases* 32: 431-436.
- FLYGER, V. AND E. J. GATES. 1982. Fox and Grey Squirrels. *In Wild Mammals of North America. Biology, Management and Economics*. J. A. Chapman et G. A. Feldhamer (eds). The Johns Hopkins University Press. pp. 209-229.
- 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. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 37: 180-187.
- GURNELL, J. 1983. Squirrels numbers and the abundance of tree seeds. *Mammal Review* 13: 133-148.
- KOPROWSKI, J. L. 1994. Sciurus carolinensis. *Mammalian Species*. 480: 1-9.

- KORCH, G. W., J. E. CHILDS, G. E. GREGORY, C. A. ROSSI AND J. W. LEDUC. 1989. Serological evidence of hantaviral infections within small mammals communities of Baltimore, Maryland: spatial and temporal patterns and host range. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 41: 230-240.
- KSIAZEK, T. G., AND T. M. YUILL. 1977. Viremia and antibody response to LaCrosse virus in sentinel grey squirrels (*Sciurus carolinensis*) and chipmunks (*Tamias striatus*). *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 26: 815-821.
- LACHAPELLE, G. 1996. Étude d'impact sur la population de l'écureuil gris (*Sciurus carolinensis*) du Parc Lafontaine. Communauté Urbaine de Montréal. pp. 1-22.
- LWANGA, S. K., AND S. LEMESHOW. 1991. Détermination de la taille d'un échantillon dans les études sanométriques: manuel pratique. Organisation Mondiale de la Santé, Genève. pp. 1-5.
- MAGEE, J. S., R. W. STEELE, N. R. KELLY, AND R. F. JACOBS. 1989. Tularemia transmitted by a squirrel bite. *The Pediatric Infectious Disease Journal* 8: 123-125.
- MANSKI, D. A.; L. W. VANDRUFF, AND V. FLYGER. 1981. Activities of grey squirrels and people in a downtown Washington, D.C. Park: Management implications. *North American Wildlife and Natural Resources Conference 46th*, Washington. pp. 439-454.
- MARTIN, S. W., M. SHOUKRI, AND M. A. THORBURN. 1992. Evaluating the health status of herds based on tests applied to individuals. *Preventive Veterinary Medicine*. 14: 33-43.

- MCLEAN, D. M, C. COBB, S. E. GOODERHAM; C. A. SMART, A. G. WILSON, AND W. E. WILSON. 1967. Powassan virus: persistence of virus activity during 1966. *Canadian Medical Association Journal* 96: 660-664.
- MCLEAN, D. M., A. DE VOS, AND E. J. QUANTZ. 1964. Powassan virus: field investigations during the summer of 1963. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 13: 747-753.
- MIKAELIAN, I., R. HIGGINS, M. LEQUIENT, M. MAJOR, F. LEFEBVRE, AND D. MARTINEAU. 1997. Leptospirosis in racoons in Quebec: 2 case reports and seroprevalence in a recreational area. *Canadian Veterinary Journal*. 38: 440-442.
- MORRIS, C. D. 1988. Eastern equine encephalomyelitis. *In* the arboviruses: epidemiology and ecology. T. P. Monath (ed), CRC Press, Boca Raton, Florida. II: 1-19.
- OTTESON, E. W., J. RIOLO, J. E. ROWE, E. JOAN, S. T. NICHOL, T. G. KSIAZEK, P. E. ROLLIN, AND S. C. ST-JEOR. 1996. Occurrence of hantavirus within the rodent population of northeastern California and Nevada. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 54: 127-133.
- SARAVANAKUMAR, P. S., P. ESLAMI, AND F. A. ZAR. 1996. Lymphocutaneous sporotrichosis associated with a squirrel bite: Case report and review. *Clinical Infectious Diseases* 23: 647-648.
- SELLERS, R. F. 1989. Eastern equine encephalitis in Quebec and Connecticut, 1972: introduction by infected mosquitoes on the wind. *Canadian Journal of Veterinary Research* 53:75-79.
- SEVER, J. L. 1962. Application of a microtechnique to viral serological investigations. *Journal of Immunology* 77: 320-329

- SHOTTS, E. B, JR., C. ANDREWS, AND T. W. HARVEY. 1975. Leptospirosis in selected wild mammals of the Florida Panhandle and southwestern Georgia. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 167: 587-589.
- SONENSHINE, D. E., F. M. BOZEMAN, M. S. WILLIAMS, S. A. MASIELLO, D. P. CHADWICK, N. I. STOCKS, D. M. LAUER, AND B. L. ELISBERG. 1977. Epizootiology of epidemic typhus (*Rickettsia prowazekii*) in flying squirrels. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 27: 339-349.
- SULLIVAN, T. P. 1990. Responses of red squirrel (*Tamiasciurus hudsonicus*) populations to supplemental food. *Journal of Mammalogy* 71(4): 579-590.
- VINETZ, J. M, G. E. GLASS, C. E. FLEXNER, P. MUELLER AND D. C. KASLOW. 1996. Sporadic human leptospirosis. *Annals of Internal Medicine*. 125: 794-798.
- WHITE, F. H., G. L. HOFF, W. J. BIGLER, AND E. BUFF. 1975. A microbiologic study of the urban grey squirrel. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 167: 603-604.
- WHITNEY, E., H. JAMNBACK, R. G. MEANS, AND T. H. WATTHEWS. 1968. Arthropod-borne-virus survey in St. Lawrence county, New York. Arbovirus reactivity in serum from amphibians, reptiles, birds and mammals. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 17: 645-650.
- WILDLIFE TECHNIQUES MANUAL COMMITTEE. 1969. Sex and age criteria for squirrels. *In* *Wildlife Management Techniques*. R. H. Giles, JR. (ed), The Wildlife Society, Washington, D.C. III: 381.
- WILSON, N. A., S. R. JR. TELFORD AND D. J. FORRESTER. 1991. Ectoparasites of a population of urban grey squirrels in northern Florida. *Journal of Medical Entomology*. 28: 461-464.

Table 1

Distribution of captures of grey squirrels in three central urban parks in Montreal, Quebec, 1996-1997.

Montreal parks	Adults		Juveniles		
	Females	Males	Females	Males	
Lafontaine	22	18	17	11	68
Mont-Royal	13	11	10	9	43
Maisonneuve-Rosemont	15	18	3	9	45
	50	47	30	29	156

4. DISCUSSION GÉNÉRALE

4.1 Problématique de l'écureuil gris en milieu urbain

Les parcs urbains clairsemés de feuillus matures offrent des habitats de choix aux écureuils gris en leur procurant abri, noix (hêtres, chênes, noyers) et samares (ormes, érables) (Ministère de l'environnement et de la faune, 1985; Flyger, 1974). De plus, de nombreuses personnes visitant les parcs quotidiennement offrent fréquemment de la nourriture aux écureuils. Sullivan (1990) a étudié les effets d'un apport de nourriture supplémentaire dans des populations d'écureuils roux sur une période de deux ans. Les résultats de l'étude indiquent que les populations nourries comptaient en moyenne de trois à quatre fois plus d'individus que les groupes contrôles. Boutin (1990) a révisé 138 études portant également sur les effets de l'addition de nourriture sur des vertébrés terrestres dans des conditions naturelles. De façon générale, les individus nourris avaient un domaine vital plus petit, une masse corporelle moyenne plus élevée et une période de reproduction plus hâtive que les individus des populations témoins. La réponse typique des groupes nourris était une augmentation de la densité de la population par un facteur de deux ou trois. Gurnell (1996) dans étude sur une population d'écureuils gris habitant une forêt de chênes, a démontré que la disponibilité des noix était le facteur limitant le plus l'expansion de la population. Également, une revue de la littérature par le même auteur révèle que la disponibilité de la nourriture semble exercer une influence sur la reproduction, le taux de mortalité et les mouvements de masse des populations d'écureuils arboricoles et donc sur la densité de leurs populations (Gurnell, 1983).

Bien que ces études aient eu lieu dans des milieux non urbains, elles suggèrent que le problème de la surpopulation d'écureuils gris rencontrés dans certains parcs urbains, comme le parc Lafontaine (Montréal) et le parc Lafayette (Washington, D.C.)

(Manski *et al.* 1981; Lachapelle, 1996), est dû, en partie du moins, à cette nourriture que le public distribue régulièrement aux écureuils.

D'un point de vue de santé publique, une densité animale élevée, dans un milieu où humains et animaux se côtoient quotidiennement, n'est pas sans soulever des inquiétudes. Épidémiologiquement, cette densité élevée, permettrait non seulement à un agent pathogène de survivre et de se répandre plus facilement au sein de la population d'écureuils gris mais également de l'écureuil à l'humain. La transmission est d'autant plus facilitée que les gens adoptent des comportements à risque, comme laisser manger les écureuils dans leurs mains, augmentant ainsi les risques de morsures ou de blessures. Les statistiques des morsures induites par des écureuils gris à Montréal ne sont pas compilées par la Régie Régionale de la Santé et des Services Sociaux, car, selon les autorités médicales, les rongeurs ne représentent pas un risque important au regard du virus de la rage (Deshaies, D., communication personnelle, 1998).

Malgré la situation particulière de l'écureuil gris dans les villes et banlieues, la seule étude ayant évalué la possibilité que ce rongeur puisse représenter une source d'infection pour l'humain en milieu urbain, a eu lieu en Floride en 1974. Les conclusions de cette étude indiquent que l'écureuil gris ne représenterait pas un risque pour la santé publique au regard de la transmission des virus responsables des encéphalites équine de l'Est et du Vénézuéla et des encéphalites de St-Louis et de La Crosse, de la tularémie, de la leptospirose et de rickettsioses (White *et al.*, 1975).

4.2 Interprétation des résultats

4.2.1 Le virus de l'encéphalite équine de l'Est

La recherche d'anticorps contre le virus de l'encéphalite équine de l'Est (EEE) a été faite dans le but de documenter le rôle des rongeurs dans l'épidémiologie de ce virus. Les résultats négatifs ne sont pas surprenants étant donné que la présence de ce virus dans la province de Québec n'a été rapportée qu'une seule fois lors de l'épidémie de septembre et octobre 1972 dans les Cantons de l'Est, qui a tué trente chevaux. L'explication de cette épidémie est obscure mais l'une des hypothèses retenues était que des moustiques infectés en provenance du Connecticut, où une épidémie d'EEE a éclaté en août 1972, auraient été emportés par des vents du sud-ouest. Des oiseaux infectés auraient également pu introduire la maladie au Québec (Sellers, 1989). Il est donc possible que ce virus ne soit pas endémique au Québec mais son introduction accidentelle reste envisageable.

Même si une étude américaine effectuée en Floride de 1987 à 1990 suggère que l'écureuil gris joue un rôle dans l'épidémiologie de ce virus, il est possible que les trois résultats positifs ne soient en fait que de faux positifs dus à des réactions croisées avec un autre alphavirus (Highland J). Malheureusement, ces sérums positifs n'ont pas été analysés par la suite par un test de neutralisation, qui aurait réduit les risques de faux positifs (Day *et al.*, 1996). D'ailleurs, le rôle des rongeurs dans l'épidémiologie du virus EEE est très peu connu. Les expériences en laboratoire laissent supposer que les mammifères de l'ordre des rongeurs sont hautement sensibles et laisseraient peu de survivants (Morris, 1988). En ce sens, notre technique d'échantillonnage pouvait potentiellement créer un biais puisque habituellement les animaux malades se cachent et ne sont pas attirés par des appâts.

4.2.2 Le virus Sin Nombre

Chaque hantavirus possède un réservoir spécifique dans l'ordre des rongeurs, famille des Muridae ou des Cricetidae. Par exemple, la souris sylvestre est le réservoir du virus Sin Nombre. Au Québec, une étude de recherche d'anticorps dirigés contre le virus Sin Nombre chez les souris sylvestres a démontré une séropositivité de l'ordre de 0 à 17,4% (Artsob, H. et M. Couillard, communication personnelle, 1996). Cependant, l'étude n'incluait pas la région de Montréal. Comme aucun inventaire de la faune urbaine par une technique de capture n'a été fait à Montréal, la présence de la souris sylvestre n'y est pas confirmée (Richard, E., communication personnelle, 1998). Ainsi, si le réservoir principal reconnu du virus Sin Nombre est absent de Montréal, il est peu probable que l'écureuil gris soit infecté, ce qui expliquerait nos résultats négatifs.

Cependant, en supposant que la souris sylvestre soit présente sur l'île de Montréal, notre hypothèse que l'écureuil gris était infecté du virus Sin Nombre est justifiable car la littérature rapporte une prévalence d'anticorps au virus Sin Nombre chez d'autres familles de rongeurs, notamment les Sciuridae (Childs *et al.*, 1994; Otteson *et al.*, 1996). Cependant, selon Childs *et al.* (1994), ces rongeurs joueraient un rôle négligeable dans la transmission du virus car les séquences virales, identifiées chez tous les rongeurs positifs par la technique PCR, étaient génétiquement similaires à celles retrouvées chez la souris sylvestre. Le fait qu'aucune variance du virus n'ait été observée suggère que le virus Sin Nombre n'est pas maintenu indépendamment par ces rongeurs. Il serait donc occasionnellement transmis par la souris sylvestre à ces autres espèces. Il est ainsi possible que la proportion d'écureuils gris infectés était à un niveau trop bas pour avoir été détectée par notre grandeur d'échantillon. De plus, dans la littérature, les tamias et les spermophiles sont les espèces de sciuridés chez lesquelles des anticorps dirigés contre le virus Sin Nombre ont été retrouvés.

Contrairement à l'écureuil gris, qui est principalement arboricole, les tamias et les spermophiles vivent principalement au sol comme la souris sylvestre. Ces deux espèces de sciuridés pourraient donc être plus fréquemment exposées au réservoir du virus Sin Nombre que les écureuils arboricoles.

4.2.3 Le virus Powassan

Timoney (1971), suite à l'infection expérimentale d'écureuils gris avec le virus POW, a émis l'hypothèse que ce rongeur pourrait jouer un rôle dans l'épidémiologie de ce virus. De plus, deux études canadiennes (Ontario) et une étude américaine (New-York) ont rapporté la présence d'anticorps neutralisants le virus POW chez 33,3 à 83,3% des écureuils gris testés. Cependant, les grandeurs d'échantillons, variant entre 2 et 6 individus, étaient petites et donc peu fiables (McLean *et al.*, 1964; McLean *et al.*, 1967; Whitney *et al.*, 1968). Au Québec, les six cas humains de même que les différentes études sur la séoprévalence humaine des infections arbovirales suggèrent que ce virus y est endémique (Artsob *et al.*, 1980; Belloncik *et al.*, 1983; Artsob, 1989). À notre connaissance, aucune étude sur la séoprévalence du virus POW chez des espèces animales n'a été faite au Québec. Plusieurs des mammifères susceptibles d'être des réservoirs, écureuils, moufettes, marmottes, rats laveurs et tamias, sont présents sur l'île de Montréal de même qu'un important vecteur du virus Powassan, *Ixodes cookei* (Trudel, L., communication personnelle, 1998). L'absence d'anticorps contre ce virus dans la population d'écureuils gris des trois parcs échantillonnés pourrait être attribuable au fait qu'aucun des écureuils capturés n'avait de tiques. Cependant, selon Flyger et Gates (1982), l'incidence des tiques chez l'écureuil gris en Amérique du Nord est plus élevée au début de la période estivale. Les périodes où notre étude a été effectuée auraient donc pu engendrer un biais de détection.

Également, et comme dans le cas du virus Sin Nombre, une trop faible proportion d'écureuils infectés au moment de l'échantillonnage, n'aurait pu être détectée par notre étude due à la grandeur de l'échantillon.

4.2.4 *Francisella tularensis*

Une exposition de sciuridés à la bactérie *F. tularensis* (sérologie et/ou isolement) a été démontrée dans la littérature à plusieurs reprises (Burroughs *et al.*, 1944; Hopla, 1974; Bruce, 1978; Bell et Reilly, 1981). De plus, aux États-Unis, la tularémie a été transmise à une fillette de 4 ans suite à une morsure d'écureuil gris (Magee *et al.*, 1989). La présence de cette zoonose dans plusieurs régions du Québec et notamment sur la rive-sud de Montréal, a été rapportée (Ford-Jones *et al.*, 1982). L'hypothèse que les écureuils gris de l'île de Montréal possèdent des anticorps contre cette bactérie était donc justifiée. Cependant, comme il a été mentionné pour le virus EEE, il est possible que la technique d'échantillonnage ait biaisé les résultats si les rongeurs infectés souffrent de la forme septicémique fatale, laissant peu de survivants avec des anticorps (Acha et Szyfres, 1989).

Également, les trois parcs étudiés se situent au centre de la métropole là où la diversité de la faune est limitée comparativement à des parcs plus boisés et de plus grande superficie situés ailleurs sur l'île de Montréal. Ces parcs peuvent donc abriter des espèces fauniques et des vecteurs différents et reconnus comme réservoirs. Par exemple, les parcs situés en bordure de cours d'eau peuvent abriter des rats musqués, une des espèces les plus souvent incriminées dans la transmission de la tularémie au Canada (Martin *et al.*, 1982). La prévalence de cette infection chez cette espèce n'est pas connue au Québec.

4.2.5 *Leptospira interrogans*

Les rongeurs sont reconnus comme jouant un rôle dans l'épidémiologie de la bactérie *Leptospira interrogans* (Larivière et Higgins, 1993). Entre 1993 et 1996, à Montréal, une femelle raton laveur a été trouvée morte dans un parc urbain. La technique d'immunofluorescence effectuée sur des organismes filamenteux logés dans les tubules rénaux a révélé une forte réaction au sérovar Bratislava et une faible réaction au sérovar Pomona (Mikaelian *et al.*, 1997). Cette découverte laisse supposer que les écureuils gris sont exposés à cette bactérie. Cependant, l'activité principalement arboricole de ce rongeur réduit peut-être les risques de transmission de cet agent à l'écureuil.

De plus, la survie de la bactérie demande des conditions environnementales particulières rencontrées durant l'été (Acha et Szyfres, 1989). Ainsi, si les écureuils s'infectent l'été, les anticorps ne seront peut-être plus détectables au printemps et à l'automne, saisons de notre échantillonnage. La persistance des anticorps chez les Sciuridae après une infection par des leptospires n'est pas rapportée dans la littérature. Vinetz *et al.* (1996) rapporte que des rats, infectés chroniquement par *L. interrogans*, peuvent être séronégatifs. L'étude de Shotts *et al.* (1975), laisse sous-entendre qu'il est possible de retrouver la bactérie dans les reins d'écureuils gris en l'absence d'anticorps. Les limites de notre étude ne nous ont pas permis de vérifier la présence de cette bactérie au niveau rénal.

4.2.6 Autres microorganismes

Les limites budgétaires et temporelles de l'étude n'ont pas permis d'inclure d'autres microorganismes présents au Québec et dont l'écureuil gris peut s'avérer un hôte potentiel. Dans le cadre de futures études, il serait intéressant notamment de vérifier la présence du virus Snowshoe hare (séro-groupe CAL) et de la bactérie *Borrelia*

burgdorferi. Des milieux différents aussi devraient être explorés comme les parcs provinciaux ou nationaux qui abritent une plus grande variété de mammifères et de vecteurs, notamment les tiques.

4.2.7 Parasites externes

La présence de puces chez les écureuils gris n'est pas surprenante puisque ces parasites externes ont été rapportés dans la littérature à maintes reprises chez cette espèce (Wilson *et al.*, 1991). Les puces adultes sont des parasites obligatoires et des 2237 espèces et sous-espèces répertoriées, 74% parasitent des rongeurs (Villeneuve, 1994). Le fait que l'écureuil gris soit arboricole peut augmenter le problème d'infestation par des puces car celles-ci sont fréquemment retrouvées dans les creux des arbres ou les nids (Flyger et Gates, 1982). Les puces ont été rapportées comme vecteurs de certains agents de zoonoses (*ex: Yersinia pestis*), mais ces parasites ne sont pas impliqués dans le cycle épidémiologique des zoonoses de cette étude.

Les périodes de l'échantillonnage peuvent expliquer en partie l'absence de tiques chez les écureuils gris mais l'entretien des parcs urbains, comme l'utilisation de pesticides et la tonte de la pelouse, ne favorisent probablement pas la présence de tiques dans ces milieux.

4.2.8 Biais

4.2.8.1 Type d'étude et méthode de diagnostic

L'étude observationnelle transversale et la sérologie constituent des choix judicieux lors de restrictions temporelle et budgétaire, comme il est souvent question lors de projet de maîtrise. Cependant, elle peuvent être source de biais. En effet, la prévalence des anticorps est influencée par plusieurs variables: le taux d'infection qui varie avec l'âge de l'animal et dans le temps, la persistance des anticorps dans le sang

et la vitesse à laquelle ces anticorps chutent (Gardner *et al.*, 1996). Par exemple, un animal récemment infecté pourrait donner un résultat sérologique faussement négatif et l'étude observationnelle transversale, restreinte temporellement, ne permettra pas de suivre cet animal pour arriver à détecter l'infection plus tard. Il en va de même pour la persistance des anticorps et la vitesse à laquelle ils diminuent; la séropositivité d'un animal ayant été exposé à un microorganisme dans le passé pourrait ne pas être détectée à moins que les anticorps ne persistent pour la vie de l'animal. Mais, ces données sont rarement disponibles pour les animaux de la faune.

Les tests sérologiques utilisés dans le cadre de cette étude ont été utilisés chez plusieurs espèces pour lesquelles ils sont reconnus avoir une très bonne sensibilité et spécificité (Artsob, H., communication personnelle, 1997). Cependant, leur utilisation chez l'écureuil gris était une première. Ils peuvent donc avoir réagi de façon variable à cause de différences dans les sérovars et des réponses sérologiques différentes de l'hôte (Gardner *et al.*, 1996).

4.2.8.2 Grandeur et représentativité de l'échantillon

La grandeur de notre échantillon permettait d'estimer une prévalence d'infection chez les écureuils de 10% avec une précision de 5%. Selon la formule de Cannon et Roe (1982) un maximum de 1,9% des écureuils gris (niveau de confiance de 95%) pouvaient être infectés au moment de l'échantillonnage. La sensibilité et la spécificité à l'échelle de la population ont été calculées à partir de valeurs estimées de la sensibilité et la spécificité des tests de laboratoire (0,80; 0,80), étant donné que ces valeurs ne sont pas connues spécifiquement pour les sciuridés. Les résultats de la spécificité et de la sensibilité à l'échelle de la population étaient proche de zéro et un, respectivement (Martin *et al.*, 1992). Ces résultats soutiennent la conclusion que

cette population d'écureuils gris est vraisemblablement exempte des agents de zoonoses testés.

L'extrapolation de ces résultats à l'ensemble de l'île de Montréal est hasardeux, étant donné que la biodiversité de certains parcs diffère significativement et peut donc avoir une influence sur les cycles de transmission des agents de zoonoses.

4.2.8.3 Technique de capture

La technique de capture avec appât utilisée dans cette étude peut aussi comporter des biais. En effet, les animaux malades sont exclus de l'échantillon car ceux-ci se cachent et ne sont généralement pas attirés par des appâts. D'ailleurs, aucun des animaux capturés ne démontrait de signe évident de maladie.

La distribution des captures par rapport au sexe semble cependant bien équilibrée puisque des 156 écureuils capturés, 80 étaient des femelles et 76, des mâles. Plus du tiers cependant étaient des juvéniles ce qui peut s'avérer un biais potentiel puisque les jeunes ont moins de chances d'avoir été exposés aux différents agents pathogènes que les adultes et donc de développer des anticorps.

4.2.8.4 Période de capture

Selon Flyger et Gates (1982), en Amérique du Nord, les tiques seraient plus abondantes chez l'écureuil gris au début de la saison estivale. Si ce pic saisonnier est également présent au Québec, il est possible que l'absence de tiques chez les écureuils examinés soient due entre autres aux périodes de notre échantillonnage.

5. CONCLUSION GÉNÉRALE

Cette étude semble être la première au Québec à s'être intéressée au problème de la faune urbaine dans un contexte de santé publique. La population d'écureuils gris habitant les parcs du centre de Montréal ne semblent pas représenter un risque pour la santé publique au regard de la transmission des agents de zoonoses virales (virus Sin Nombre, Powassan et de l'encéphalite équine de l'Est) et bactériennes (*F. tularensis* et *L. interrogans*) testés. Qui plus est, le très bon état de chair des écureuils, plus de 40% des écureuils adultes pesant entre 700 et 840 grammes, ainsi que l'absence de signe évident de maladie chez les animaux capturés indiquent que cette population animale est en bonne santé.

Le plus grand risque de transmission de maladies par des écureuils gris est probablement l'infection suite à une morsure, leurs incisives tranchantes pouvant pénétrer profondément la peau. Ainsi, les nombreuses personnes qui nourrissent ces rongeurs augmentent le risque d'être mordues et entretiennent également le problème de surpopulation des écureuils gris qui sévit notamment au parc Lafontaine de Montréal. À cet égard, cette étude aura servi, entre autre, à informer le public (annexe 1) sur la problématique des écureuils en milieu urbain. Cependant, des études supplémentaires sur les agents de zoonoses et leurs vecteurs seraient nécessaires dans des milieux différents, durant d'autres périodes de l'année et auprès d'espèces différentes pour évaluer le risque réel de la faune urbaine pour l'humain et leurs animaux de compagnie.

BIBLIOGRAPHIE

- ACHA, N. P. ET B. SZYFRES. 1989. Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux. Office international des épizooties, Paris, France. 1063 p.
- ARTSOB, H. 1989. Powassan encephalitis. *In* The arboviruses: epidemiology and ecology. T. P. Monath (ed.), CRC Press, Boca Raton, Florida. pp. 29-49.
- ARTSOB, H., L. SPENCE, C. TH'NG ET R. WEST. 1980. Serological survey for human arbovirus infections in the province of Quebec. *Canadian Journal of Public Health*. 71: 341-346.
- BAER, G. M. 1991. The Natural History of Rabies. CRC Press (éd.). Boca Raton, Florida. 2e ed. pp. 405-410
- BARKALOW, F. S. Jr. ET M. SHORTEN. 1973. The World of the Gray Squirrel. J.B. Lippincott Company (ed.). 160 p.
- BARKALOW, F. S. Jr. ET R. F. Jr. SOOTS. 1975. Life span and reproductive longevity of the gray squirrel, *Sciurus c.carolinensis* Gmelin. *Journal of Mammalogy*. 56: 522-524.
- BELL, F. J. ET J. R. REILLY. 1981. Tularemia. *In* Infectious diseases of wild mammals. Bacterial, rickettsial and mycotic diseases. J. W. Davis, L. H. Karstad et D. O. Trainer (eds). Ames: Iowa State University Press, 2e ed. pp. 213-231.
- BELL, J. F. ET S. J. STEWART. 1975. Chronic shedding tularemia nephritis in rodents: possible relation to occurrence of *Francisella tularensis* in Lotic waters. *Journal Wildlife Diseases*. 11: 421-430.
- BELLAVANCE, R., E. ROSSIER, M. LEMAÎTRE, N. G. WILLIS ET P. BÉLANGER. 1985. Eastern equine encephalomyelitis in eastern Canada-1972. *Canadian Journal of Public Health*. 64: 189-190.
- BELLONCIK, S., A. AUBIN, A. MAIRE, J. BOISVERT, R. GAGNON, C. TH'NG, C. TRUDEL ET H. ARTSOB. 1983. Arbovirus studies in the Trois-Rivieres area, province of Quebec, Canada. *Mosquito News*. 43: 426-431.
- BOUTIN, S. 1990. Food supplementation experiments with terrestrial vertebrates: patterns, problems, and the future. *Canadian Journal of Zoology*. 68: 203-220.

- BRUCE, L. D. 1978. Tularemia in Canada: *Francisella tularensis* agglutinins in Alberta ground squirrel sera. *Canadian Journal of Public Health*. 69: 49-50.
- BURROUGHS, A.L., R. HOLDENRIED, D. S. LONGANECKER ET K. F. MEYER. 1944. A field study of latent tularemia in rodents with a list of all known naturally infected vertebrates. *Journal of Infectious Diseases*. 76: 115-119.
- BURT, W. H. ET R. P. GROSSENHEIDER. 1992. Les Mammifères de l'Amérique du Nord (au nord du Mexique). Broquet Inc. (ed.). pp.117-118.
- CALISHER, C. H. 1994. Medically important arboviruses of the United States and Canada. *Clinical Microbiology Reviews*. 7: 89-116.
- CANNON, R. M. ET ROE, R. T. 1982. Livestock disease surveys: A field manual for veterinarians. Australian Bureau of Animal Health, Canberra, pp. 14-17.
- CAPPUCCI, D. T., R. W. EMMONS ET W. W. SAMPSON. 1972. Rabies in an eastern fox squirrel. *Journal of Wildlife Diseases*. 8: 340-342.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. 1995. Arboviral disease- United States, 1994. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 44: 641-644.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. 1984. Epidemic Typhus- Georgia. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 33: 618-619.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. 1993. Hantavirus infection- Southwestern United States: Interim recommendations for risk reduction. *Morbidity and Mortality Weekly Report. Recommendations and Reports*. 42 (RR-11): i-13.
- CHAPMAN, L. E. ET R. F. KHABBAZ. 1994. Etiology and epidemiology of the Four Corners Hantavirus outbreak. *Infectious Agents and Disease*. 3: 234-244.
- CHILDS, J. E., G. E. GLASS, G. W. KORCH ET J. W. LEDUC. 1988. The ecology and epizootiology of hantaviral infections in small mammal communities of Baltimore: A review and synthesis. *Bulletin of the Society for Vector Ecology*. 13: 113-122.
- CHILDS, J. E., T. G. KSIAZEK, C. F. SPIROPOULOU, J. W. KREBS, S. MORZUNOV, G. O. MAUPIN, K. L. GAGE, P. E. ROLLIN, J. SARISKY, R. E. ENSCORE, J. K. FREY, C. J. PETERS ET S. T.

- NICHOL. 1994. Serologic and genetic identification of *Peromyscus maniculatus* as the primary reservoir of a new hantavirus in the Southwestern United States. *The Journal of Infectious Diseases*. 169: 1271-1280.
- CRAINE, N. G, P. A. NUTTALL, A. C. MARRIOTT ET S. E. RANDOLPH. 1997. Role of grey squirrels and pheasants in the transmission of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, the Lyme disease spirochaete, in the U.K. *Folia Parasitologia*. 44: 155-160.
- DAY, J. F., L. M. STARK, J. ZHANG, A. M. RAMSEY ET T. W. SCOTT. 1996. Antibodies to arthropod-borne encephalitis viruses in small mammals from Southern Florida. *Journal of Wildlife Diseases*. 32: 431-436.
- DEIBEL, R., S. SRIHONGSE ET J. P. WOODALL. 1979. Arboviruses in New York state: an attempt to determine the role of arboviruses in patients with viral encephalitis and meningitis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 28: 577-582.
- DUCHIN, J. S., F. T. KOSTER, C. J. PETERS, G. L. SIMPSON, B. TEMPEST, S. ZAKI, R. SHERIF, T. G. KSIAZEK, P. E. ROLLIN, S. NICHOL, E. T. UMLAND, R. L. MOOLENAAR, S. E. REEF, K. B. NOLTE, M. M. GALLAHER, J. C. BUTLER, R. F. BREIMAN ET THE HANTAVIRUS STUDY GROUP. 1994. Hantavirus pulmonary syndrome: a clinical description of 17 patients with a newly recognized disease. *The New England Journal of Medicine*. 330: 949-955.
- DURDEN, L. A. 1980. Seasonal abundance of fleas (Siphonaptera) and suckling lice (Anoplura) on gray squirrels, *Sciurus carolinensis*, in Central Tennessee, USA. *Journal of Medical Entomology*. 17: 483-484.
- EMBREE, J. E., K. R. ROZEE ET J. A. EINBIL. 1976. Antibodies to California encephalitis and Powassan viruses in the snowshoe hare (*Lepus americanus*) population of Nova Scotia. *Canadian Journal of Public Health*. 68: 33.
- EVANS, M. E., D. W. GREGORY, W. SCHAFFNER ET Z. A. MCGEE. 1985. Tularemia: A 30-year experience with 88 cases. *Medicine*. 64: 251-269.
- FARR, R. W. 1995. Leptospirosis. *Clinical Infectious Diseases*. 21: 1-8.
- FITCH, W. M. ET H. ARTSOB. 1990. Powassan encephalitis in New Brunswick. *Canadian Family Physician*. 36: 1289-1290.

- FLYGER, V. 1974. Tree squirrels in urbanizing environments. *In* Wildlife in an urbanizing environment. J. H. Noyes et D. R. Progulske (eds.). Holdsworth Natural Resources Center, University of Massachusetts. pp. 121-124.
- FLYGER, V. ET E. J. GATES. 1982. Fox and Grey Squirrels. *In* Wild Mammals of North America. Biology, Management and Economics. J. A. Chapman et G. A. Feldhamer (eds). The Johns Hopkins University Press. pp. 209-229.
- FORD-JONES, L., G. DELAGE, K. R. POWELL, G. A. AHRONHEIM, E. ROUSSEAU ET F. GOSELIN. 1982. "Muskrat fever": two outbreaks of tularemia near Montreal. *Canadian Medical Association Journal*. 127: 298-299.
- GARDNER, I.A, S. HIETALA, W. M. BOYCE. 1996. Validity of using serological tests for diagnosis of diseases in wild animals. *Revue Scientifique Technique de l'Office International des Épizooties*. 15: 323-335.
- GATTEREAU, A., R. GAREAU ET G. SALIOU DIALLO. 1970. Deux cas de tularémie dans la province de Québec. *Canadian Medical Association Journal*. 103: 512-515.
- GODSEY, M. S., T. E. AMUNDSON, E. C. BURGESS, W. SCHELL, J. P. DAVIS, R. KASLOW ET 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. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 37: 180-187.
- GURNELL, J. 1983. Squirrels numbers and the abundance of tree seeds. *Mammal Review*. 13: 133-148.
- GURNELL, J. 1996. The effects of food availability and winter weather on the dynamics of a grey squirrel population in southern England. *Journal of Applied Ecology*. 33: 325-338.
- HEATH, C. W., A. D. ALEXANDER ET M. M. GALTON. 1965. *New England Journal of Medicine*. 273: 857-864.
- HEATH, S. E. ET R. JOHNSON. 1994. Leptospirosis. *Journal of the American Medical Association Journal*. 205: 1518-1523.
- HIGGINS, R. ET P. CAYOUEPTE. 1978. Serological diagnostic of leptosirosis in the province of Quebec. *Canadian Veterinary Journal*. 19: 13-16.

- HIGGINS R., P. CAYOUEE ET J.G. COUSINEAU. 1975. La leptospirose chez les bovins laitiers, enquête sérologique dans la province de Québec. *Canadian Veterinary Journal*. 16: 304-307.
- HIGGINS, R., P. CAYOUEE, F. HOQUET ET F. DE LASALLE. 1980a. Serological studies on leptospirosis in domestic animals in Quebec. *Canadian Journal of Comparative Medicine*. 44: 229-231.
- HIGGINS, R., A. DÉSILETS, E. RENÉ-ROBERGE. 1980b. Serological survey of leptospiral antibodies in swine in Quebec. *Canadian Veterinary Journal*. 21: 278-279.
- HJELLE, B., S. A. JENISON, D. E. GOADE, W. B. GREEN, R. M. FEDDERSEN ET A. A. SCOTT. 1995. Hantaviruses: Clinical, microbiologic and epidemiologic aspects. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 32: 469-508.
- HJELLE, B., N. TORREZ-MARTINEZ, F. T. KOSTER, M. JAY, M. S. ASCHER, T. BROWN, P. REYNOLDS, P. ETTESTAD, R. E. VOORHEES, J. SARISKY, R. ENSCORE, L. SANDS, D. G. MOSLEY, C. KIOSKI, R. T. BRYAN ET M. C. SEWELL. 1996. Epidemiologic linkage of rodent and human hantavirus genomic sequences in case investigations of hantavirus pulmonary syndrome. *The Journal of Infectious Diseases*. 173: 781-786.
- HOFF, G. ET W. BIGLER. 1980. Human enteroviruses and wildlife: Isolation from gray squirrels. *Journal of Wildlife Diseases*. 16: 131-133.
- HOPLA, C. E. 1974. The ecology of tularemia. *Advances in Veterinary Sciences and Comparative Medicine*. 18: 25-53.
- HUDSON, B. W., M. I. GOLDENBERG, D. J. MCCLUSKIE, H. E. LARSON, D. C. MCGUIRE, A. M. BARNES ET J. D. POLAND. 1971. Serological and bacteriological investigations of an outbreak of plague in an urban tree squirrel population. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 20: 255-263.
- KARIWA, H., M. KIMURA, S. YOSHIKUMI, J. ARIKAWA, K. YOSHIMATSU, I. TAKASHIMA ET N. HASHIMOTO. 1996. Modes of Seoul virus infections: Persistency in newborn rats and transiency in adult rats. *Archives of Virology*. 141: 2327-2338.
- KOPROWSKI, J. L. 1994. *Sciurus carolinensis*. *Mammalian Species*. 480: 1-9.
- KORCH, G. W., J. E. CHILDS, G. E. GLASS, C. A. ROSSI ET J. W. LEDUC. 1989. Serologic evidence of hantaviral infections within small

mammal communities of Baltimore, Maryland: Spatial and temporal patterns and host range. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 41: 230-240.

- KSIAZEK, T. G. ET T. M. YUILL. 1977. Viremia and antibody response to La Crosse virus in sentinel gray squirrels (*Sciurus carolinensis*) and chipmunks (*Tamias striatus*). *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 26: 815-821.
- LACHAPELLE, G. 1996. Étude d'impact sur la population de l'écureuil gris (*Sciurus carolinensis*) du Parc Lafontaine. Communauté urbaine de Montréal. 22 p.
- LARIVIÈRE, S. ET R. HIGGINS. 1993. Bactériologie et mycologie vétérinaires. Faculté de médecine vétérinaire, département de pathologie et microbiologie. La librairie de l'Université de Montréal. 365 p.
- LEE, H. W., G. R. FRENCH, P. W. LEE, L. J. BAEK, K. TSUCHIYA ET R. S. FOULKE. 1981a. Observations on natural and laboratory infection of rodents with the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 30: 477-482.
- LEE, H. W., P. W. LEE, L. J. BAEK, C. K. SONG ET I. W. SEONG. 1981b. Intraspecific transmission of Hantaan virus, etiologic agent of Korean hemorrhagic fever, in the rodent *Apodemus agrarius*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 30: 1106-1112.
- LÉVESQUE, B., G. DE SERRES, R. HIGGINS, M. A. D'HALEWYN, H. ARTSOB, J. GRONDIN, M. MAJOR, M. GARVIE ET B. DUVAL. 1995. Seroepidemiologic study of three zoonoses (leptospirosis, Q fever and tularemia) among trappers in Québec, Canada. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 2: 496-498.
- LEWIS, E., G. HOFF, W. J. BIGLER ET M. B. JEFFERIES. 1975. Public health and the urban grey squirrel: Mycology. *Journal of Wildlife Diseases*. 11: 502-503.
- MACINNES, C. D. 1987. Rabies. *In Wild Furbearer Management and Conservation in North America*. North Bay. M. Novak, J. A. Baker, W. E. Obbard et B. Malloch (eds.). pp. 910-929.
- MACKINNON, A. G. 1947. Pulmonary type of tularemia. *Canadian Medical Association Journal*. 56: 541-542.

- MAGEE, J. S., R. W. STEELE, N. R. KELLY ET R. F. JACOBS. 1989. Tularemia transmitted by a squirrel bite. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 8: 123-125.
- MAIRE A. ET A. AUBIN. 1980. Les moustiques du Québec (Diptera: culicidae). Essai de synthèse écologique. *Mémoires de la société entomologique du Québec*. 6: 107p.
- MANSKI, D. A., L. W. VANDRUFF ET V. FLYGER. 1981. Activities of gray squirrels and people in a downtown Washington, D.C. Park: management implications. 46th North American Wildlife and Natural Resources Conference. Washington. pp. 439-454.
- MARTIN, T., I. H. HOLMES, G. A. WOBESER, R. F. ANTHONY ET I. GREEFKES. 1982. Tularemia in Canada with a focus on Saskatchewan. *Canadian Medical Association Journal*. 127: 279-282.
- MARTIN, S. W., M. SHOUKRI, ET M. A. THORBURN. 1992. Evaluating the health status of herds based on tests applied to individuals. *Preventive Veterinary Medicine*. 14: 33-43.
- MCDADE, J. E. 1987. Flying squirrels and their ectoparasites: disseminators of epidemic typhus. *Parasitology Today*. 3: 85-87.
- MCLEAN, D. M., A. DE VOS ET E. J. QUANTZ. 1964. Powassan virus: field investigations during the summer of 1963. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 13: 747-753.
- MCLEAN, D. M., C. COBB, S. E. GOODERHAM, C. A. SMART, A. G. WILSON ET W. E. WILSON. 1967. Powassan virus: persistence of virus activity during 1966. *Canadian Medical Association Journal*. 96: 660-664.
- MCLEAN, D. M., M. A. CRAWFORD, S. R. LADYMAN, R. R. PEERS ET K. W. PURVIN-GOOD. 1970. California encephalitis and Powassan virus activity in British Columbia, 1969. *American Journal of Epidemiology*. 92: 266-272.
- MCLEAN, R. G., G. FRIER, G. L. PARHAM, D. B. FRANCY, T. P. MONATH, E. G. CAMPOS, A. THERRIEN, J. KERSCHNER ET C. H. CALISHER. 1985. Investigations of the vertebrate hosts of eastern equine encephalitis during an epizootic in Michigan, 1980. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 34: 1190-1202.
- MCLINTOCK, J. 1976. The arbovirus problem in Canada. *Canadian Journal of Public Health*. 67: 8-12.

- MIKAELIAN, I., R. HIGGINS, M. LEQUIENT, M. MAJOR, F. LEFEBVRE, D. MARTINEAU. 1997. Leptospirosis in racoons in Quebec: 2 case reports and seroprevalence in a recreational area. *Canadian Veterinary Journal*. 38: 440-442.
- MINISTÈRE DE L'ENVIRONNEMENT ET DE LA FAUNE. 1985. L'écureuil gris et les solutions pratiques aux problèmes qu'il peut causer. Direction régionale de Montréal. pp.1-15.
- MORRIS, C. D. 1988. Eastern equine encephalomyelitis. *In* *The Arboviruses: Epidemiology and Ecology*. T. P. Monath (ed.). CRC press, Boca Raton, Florida. II: 1-19.
- MOULTON, D. W. ET W. H. THOMPSON. 1971. California group virus infections in small, forest dwelling mammals of Wisconsin. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 20: 474-482.
- NAYAR, G. P. S., M. S. CRAWSHAW ET J. L. NEUFELD. 1979. Tularemia in nonhuman primates. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 175: 962-963.
- OTTESON, E. W., J. RIOLO, J. E. ROWE, S. T. NICHOL, T. G. KSIAZEK, P. E. ROLLIN ET S. C. ST-JEOR. 1996. Occurrence of hantavirus within the rodent population of northeastern California and Nevada. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 54: 127-133.
- PANTUWATANA, S., W.H. THOMPSON, D.M. WATTS, ET R.P. HANSON. 1972. Experimental infection of chipmunks and squirrels with La Crosse and Trivittatus viruses and biological transmission of La Crosse virus by *Aedes triseriatus*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 21: 476-481.
- PARKER, J. C. 1968. Parasites of the grey squirrel in Virginia. *The Journal of Parasitology*. 54: 633-634.
- PARMENTER, R. R., J. W. BRUNT, D. I. MOORE ET S. ERNEST. 1993. The hantavirus epidemic in the Southwest: Rodent population dynamics and the implications for transmission of hantavirus-associated adult respiratory distress syndrome (HARDS) in the Four Corners region: Sevilleta Long-Term Ecological Research Program. Department of Biology, University of New Mexico. 44 p.
- PREIKSAITIS, J. K., G. J. CRAWSHAW, G. S. P. NAYAR ET H. G. STIVER. 1979. Human tularemia at an urban zoo. *Canadian Medical Association Journal*. 121: 1097-1099.

- PRESCOTT, J. ET P. RICHARD. 1982. Écureuil gris ou noir. *In* Mammifères du Québec et de l'Est du Canada. France-Amérique (ed). pp. 93-97.
- RODHAIN, F. 1996. Les zoo-anthroponoses impliquant des rongeurs: considérations épidémiologiques. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. 89: 5-11.
- ROHRBACH, B. W. 1988. Tularemia. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 193: 428-432.
- RUSSO, P. K., D. C. MENDELSON, P. H. ETKIND, M. GARBER, V. P. BERARDI ET R. P. GILFILLAN. 1981. Epidemic typhus (*Rickettsia prowazekii*) in Massachusetts: Evidence of infection. *The New England Journal of Medicine*. 304: 1166-1168.
- SANTÉ ET BIEN-ÊTRE SOCIAL CANADA. 1989. La leptospirose: un diagnostic à considérer. *Rapport Hebdomadaire des Maladies au Canada*. 15: 13-16.
- SARAVANAKUMAR, P. S., P. ESLAMI ET F. A. ZAR. 1996. Lymphocutaneous sporotrichosis associated with a squirrel bite: Case report and review. *Clinical Infectious Diseases*. 23: 647-648.
- SCHMALJOHN, C. S., S. E. HASTY, J. M. DALRYMPLE ET J. W. LEDUC. 1985. Antigenic and genetic properties of viruses linked to hemorrhagic fever with renal syndrome. *Science*. 227: 1041-1044.
- SCOTT, T. W. ET S. C. WEAVER. 1989. Eastern equine encephalitis virus: epidemiology and evolution of mosquito transmission. *Advances in Virus Research*. 37: 277-328.
- SELLERS, R. F. 1989. Eastern equine encephalitis in Quebec and Connecticut, 1972: introduction by infected mosquitoes on the wind. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 53: 75-79.
- SHOTTS, E. B. Jr., C. ANDREWS ET T. W. HARVEY. 1975. Leptospirosis in selected wild mammals of the Florida Panhandle and southwestern Georgia. *Journal of The American Veterinary Medical Association*. 167: 587-589.
- SONENSHINE, D. E., F. M. BOZEMAN, M. S. WILLIAMS, S.A. MASIELLO, D. P. CHADWICK, N. I. STOCKS, D. M. LAUER ET B. L. ELISBERG. 1978. Epizootiology of epidemic typhus (*Rickettsia prowazekii*) in flying squirrels. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 27: 339-349.

- SULLIVAN, T. P. 1990. Responses of red squirrel (*Tamiasciurus hudsonicus*) populations to supplemental food. *Journal of Mammalogy*. 71: 579-590.
- TAYLOR, J. P., G. R. ISTRE, T. C. MCCHESENEY, F. T. SATALOWICH, R. PARKER, ET L. M. MCFARLAND. 1991. Epidemiologic characteristics of human tularemia in the Southwest-Central states, 1981-1987. *American Journal of Epidemiology*. 133: 1032-1038.
- TIMONEY, P. 1971. Powassan virus infection in the grey squirrel. *Acta Virologica*. 15: 429.
- TSAI, T. F. 1987. Hemorrhagic fever with renal syndrome: Mode of transmission to humans. *Laboratory Animal Science*. 37: 428-430.
- TURELL, M. J., G. W. KORCH, C. A. ROSSI, D. SESLINE, B. A. ENGE, D. V. DONDERO, M. JAY, G. V. LUDWIG, D. LI, C. S. SCHMALJOHN, R. J. JACKSON ET M. S. ASCHER. 1995. Short report: Prevalence of hantavirus infection in rodents associated with two fatal human infections in California. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 52: 180-182.
- UHLIG, H. G. 1955. Weights of adult gray squirrels. *Journal of Mammalogy*. 36: 293-296.
- VILLENEUVE, A. 1994. Les parasites des animaux domestiques du Québec. Faculté de médecine vétérinaire. La librairie de l'Université de Montréal. 333 p.
- VINETZ, J. M, G. E. GLASS, C. E. FLEXNER, P. MUELLER ET D. C. KASLOW. 1996. Sporadic human leptospirosis. *Annals of Internal Medicine*. 125: 794-798.
- WATTS, D. M., R. F. TAMMARIELLO, J. M. DALRYMPLE, B. F. ELDRIDGE, P. K. RUSSEL, ET F. H. Jr. TOP. 1979. Experimental infection of vertebrates of the Pocomoke Cypress Swamp, Maryland with Keystone and Jamestown Canyon Virus. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 28: 344-350.
- WELLS, R. M, S. S. ESTANI, Z. E. YADON, D. ENRIA, P. PADULA, N. PINI, J. MILLS, C. J. PETERS, E. L. SEGURA ET THE HANTAVIRUS PULMONARY SYNDROME STUDY GROUP FOR PATAGONIA. 1997. An unusual hantavirus outbreak in southern Argentina: Person-to-person transmission ? *Emerging Infectious Diseases*. 3: 171-174.

- WHITE, F. H., G. L. HOFF, W. J. BIGLER ET E. BUFF. 1975. A microbiologic study of the urban gray squirrel. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 167: 603-604.
- WHITNEY, E., H. JAMNBACK, R.G MEANS ET T. H. WATTHEWS. 1968. Arthropod-borne-virus survey in St.Lawrence county, New York. Arbovirus reactivity in serum from amphibians, reptiles, birds and mammals. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 17: 645-650.
- WILSON, N. A., S. R. JR. TELFORD ET D. J. FORRESTER. 1991. Ectoparasites of a population of urban grey squirrels in northern Florida. *Journal of Medical Entomology*. 28: 461-464.
- WINKLER, W. G., N.J. SCHNEIDER ET W.L. JENNINGS. 1972. Experimental rabies infection in wild rodents. *Journal of Wildlife Diseases*. 8: 99-103.
- WYATT, J.P. 1994. Squirrel bites. *British Medical Journal*. 309: 1694.
- YAMADA, T., B. HJELLE, R. LANZI, C. MORRIS, B. ANDERSON ET S. JENISON. 1995. Antibody responses to Four Corners Hantavirus infections in the deer mouse (*Peromyscus maniculatus*): Identification of an immunodependant region of the viral nucleocapsid protein. *Journal of Virology*. 69: 1939-1943.
- YANAGIHARA, R., D. GOLDGABER ET D. C. GAJDUSEK. 1985a. Propagation of nephropathia epidemica virus in mongolian gerbils. *Journal of Virology*. 53: 973-975.
- YANAGIHARA, R., H. L. AMYX ET C. D. GAJDUSEK. 1985b. Experimental infection with Puumala virus, the etiologic agent of nephropathia epidemica, in bank voles (*Clethrionomys glareolus*). *Journal of Virology*. 55: 34-38.
- YOUNG, J. 1998. Hantavirus pulmonary syndrome-USA: Update January 14th. ProMED-Mail.
- YOUNG, L. S., D. S. BICKNELL, B. G. ARCHER, J. M. CLINTON, L. J. LEAVENS, J. C. FEELEY ET P. S. BRACHMAN. 1969. Tularemia epidemic: Vermont, 1968: Forty-seven cases linked to contact with muskrat. *The New England Journal of Medicine*. 280: 1253-1260.
- ZARNKE, R. L. ET T. M. YUILL. 1981. Powassan virus infection in Snowshoe hares (*Lepus americanus*). *Journal of Wildlife Diseases*. 17: 303-309.

ANNEXE 1

Tableau II Distribution du poids et de la longueur (\bar{x} +/- erreur-type) des **écureuils gris** en fonction du sexe et de l'âge

	Femelles adultes	Mâles adultes	Femelles juvéniles ¹	Mâles juvéniles
Poids (g)	693,6 +/- 42,5	654,5 +/- 60,5	601,6 +/- 61,3	548,7 +/- 84,4
Longueur ² (mm)	275,7 +/- 15,9	275,6 +/- 19,5	272,7 +/- 20,1	274,6 +/- 20,0

¹ Juvéniles: < à 1 an

² Longueur: du bout du nez à la base de la queue

ANNEXE 2

Description des épreuves sérologiques

Dosage immuno-enzymatique (ELISA)

Virus Sin Nombre

Le test consiste à détecter et mesurer des anticorps. Les anticorps contenus dans les sérums d'écureuils gris sont capturés par un antigène spécifique. Un ligand est ajouté (molécule couplée à une enzyme) qui se fixe à l'anticorps et après lavage est révélé par l'addition d'un chromogène. La quantité d'anticorps est déterminée à partir de la densité optique des puits de la plaque.

Les puits ont été remplis avec un antigène recombiné de la nucléocapside du virus Sin Nombre. Après incubation, les sérums d'écureuils gris ont été ajoutés, ainsi qu'un contrôle positif et négatif (dilution finale 1:100 à 1: 6400). Après lavage des plaques, le conjugué anti-rougeur (mélange égal de peroxydase et d'IgG anti-rat et anti-*Peromyscus Leucopus* de chèvre) a été ajouté. Après incubation, lavage et ajout du chromogène, la lecture de la densité optique des plaques a été faite (410 nm). Un sérum qui avait un titre $\geq 1:400$ (densité optique nette $\geq 0,95$) était considéré positif, un sérum de titre égal à 1:100 douteux et inférieur à 1:100, négatif.

Épreuve de l'agglutination en tubes

Francisella tularensis

La technique consiste à détecter des anticorps spécifiques: les agglutinines. Les sérums d'écureuils gris qui contiennent des agglutinines spécifiques lorsque combinés

à un antigène homologue, sous des conditions contrôlées, sont capables de causer une réaction d'agglutination.

Les sérums d'écureuils gris ont été dilués de 1:10 à 1:160 et mis en présence d'un volume équivalent d'une suspension d'antigène de *F. tularensis* (BBL). Un contrôle négatif a été réalisé dans le but de vérifier le degré d'auto-agglutination de l'antigène. Le degré d'agglutination a été évalué en comparaison avec des sérums témoins positifs de lièvre et d'humain. Le titre de l'échantillon a été obtenu de la dernière dilution qui a donné une turbidité de 50% dans le surnageant après une période d'incubation de 20 heures à 37°C

Épreuve d'inhibition de l'hémagglutination

Virus de l'encéphalite équine de l'Est et Powassan

La technique repose sur la capacité des anticorps contenus dans le sérum suspect à lier les hémagglutinines des antigènes viraux. La présence d'un bouton de cellules bien défini dans le fond du puits indique que l'hémagglutinine des antigènes viraux s'est liée avec les anticorps présents dans le sérum suspect ce qui indique une réaction positive (inhibition de l'hémagglutination). À l'opposé, en l'absence d'anticorps, les antigènes viraux sont libres et se lient aux globules rouges ajoutés à la solution créant ainsi une agglutination (hémagglutination).

Tous les sérums ont été traités au kaolin afin de réduire les risques de faux positifs. Les sérums d'écureuils gris ont été dilués (1:10) et mélangés à l'antigène viral. Des contrôles positifs (EEE: serum immune horse #24 et POW: Powassan ascitic fluid 1:4) et négatifs ont été inclus. Après une incubation à 4°C pour la nuit, une suspension (10%) de globules rouges d'oie a été ajoutée dans chaque puits. Les

plaques ont été agitées 30 secondes puis après un repos d'une heure à la température de la pièce, la lecture a été faite. Un résultat était considéré positif si la qualité du bouton sans hémolyse était équivalent à celui du contrôle positif.

Épreuve d'agglutination microscopique

Leptospira interrogans

La technique consiste à mesurer, au microscope à fond noir, le degré d'agglutination présent entre les anticorps et des antigènes vivants de différents sérovars de *L. interrogans*.

Les sérums d'écureuils gris ont été dilués (1:50) et placés dans des puits. Des contrôles positifs et négatifs ont été inclus. Des cultures des sérovars de *L. interrogans* ont été dilués à une concentration de $1-2 \times 10^8$ leptospires/ml. La densité d'organismes de leptospires a incubé avec les sérums a été déterminée par un comptage direct en utilisant un microscope à fond noir (400x). Une densité d'environ 100 organismes/ml a été utilisée. Des volumes égaux de sérums dilués et de cultures de leptospires ont été mélangés et incubés pendant 2 à 4 heures à 30°C. Les échantillons étaient ensuite examinés au microscope (400x) pour mesurer le degré d'agglutination. Un échantillon avec une agglutination >50% entre les spirochètes et les anticorps était considéré positif.

ANNEXE 3

La présente étude a permis d'informer le public sur divers problèmes reliés à la faune en milieu urbain et en particulier sur celui des zoonoses, par l'intermédiaire des médias et des conférences suivantes:

- Article paru dans le journal du plateau Mont-Royal en août 1997: **Au Parc Lafontaine: Une étude sur les écureuils gris.**
- Parution au bulletin de nouvelles de CBC en août 1997.
- Conférence au laboratoire de santé publique du Québec en décembre 1997.
- Présentation à l'Association canadienne-française pour l'avancement des sciences (Acfas) en mai 1998.
- Article paru dans le journal "La Presse" en mai 1998: **Inoffensif, l'écureuil gris des parcs de Montréal.**
- Article paru dans la revue "Québec Science" en juillet 1998: **Les écureuils gris: de bons voisins.**
- Participation à l'émission radio "Montréal express" de Radio-Canada en août 1998.