

Université de Montréal

**Efficacité des isoxazolines pour traiter le réservoir  
principal de l'agent de la maladie de Lyme, la souris  
*Peromyscus leucopus***

par

Gabrielle Dimitri Masson

Département de pathologie et microbiologie  
Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté de médecine vétérinaire  
en vue de l'obtention du grade de *Maîtrise ès sciences* (M. Sc.)  
en sciences vétérinaires, option épidémiologie

Avril 2021

© Gabrielle Dimitri Masson, 2021

Université de Montréal  
Département de pathologie et microbiologie, Faculté de médecine vétérinaire

*Ce mémoire intitulé*

**Efficacité des isoxazolines pour traiter le réservoir principal de l'agent de la  
maladie de Lyme, la souris *Peromyscus leucopus***

*Présenté par*

**Gabrielle Dimitri Masson**

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes

**André Ravel**

Président-rapporteur

**Patrick Leighton**

Directeur de recherche

**Claire Jardine**

Codirectrice

**Manisha Kulkarni**

Membre du jury

## Résumé

La maladie de Lyme est émergente au Canada; le risque engendré par cette maladie vient en partie de la ténacité de son vecteur et des méthodes limitées pour réduire son abondance dans l'environnement. Actuellement, peu de moyens de prévention visent de manière efficace et sécuritaire le réservoir principal de la bactérie responsable de la maladie, la souris à patte blanche *Peromyscus leucopus*. L'objectif de ce projet était d'évaluer l'efficacité des isoxazolines, une nouvelle classe d'antiparasitaire, lorsqu'administré sous forme d'appâts oraux aux micromammifères résidents d'un site endémique pour la maladie de Lyme. Les appâts furent distribués lors de l'été 2018 et 2019, sur les terrains choisis du parc national des Mille-Îles, en Ontario. La capture de micromammifères, en terrain traité et non traité, nous permit d'évaluer l'infestation (nombre de tiques par souris) du réservoir *Peromyscus* alors que l'effet du traitement sur la densité de tiques dans l'environnement fut estimé par la technique de flanelle. L'impact de la molécule d'isoxazoline employée (sarolaner versus fluralaner), de la biodiversité et du type d'environnement (caractéristiques de la forêt, température, humidité) fut également évalué. Des modèles linéaires mixtes binomiale négative furent composés pour déterminer l'impact de chacune des variables mesurées et du traitement sur les variables dépendantes, soit le nombre de tiques sur les souris capturées et la densité de nymphes dans l'environnement. Après deux étés de traitement, les souris capturées sur les microsites traités furent significativement moins infestées que les souris capturées sur les microsites contrôles pour 3 des 5 sites étudiés. Par contre, aucune diminution significative du nombre de nymphes dans l'environnement ne fut observée, probablement dû à la courte durée du devis d'étude. La densité de nymphes dans l'environnement variait toutefois en fonction de l'année d'échantillonnage et était positivement corrélée avec la biodiversité au niveau du microsite. Le nombre de tiques sur *Peromyscus spp.* était associé au sexe (les mâles étant plus infesté) et à la taille de l'animal, au mois et à l'année de la capture, à une forte densité de larves dans l'environnement et au traitement effectué sur le microsite de capture. Le fluralaner se montra plus efficace à réduire l'infestation moyenne des rongeurs. Cette étude fut la première à étudier l'utilisation de saronaler oral chez le réservoir principal de l'agent de la maladie de Lyme en milieu naturel. L'effet du traitement chez les micromammifères est prometteur, mais son efficacité pour réduire la densité de tiques dans l'environnement reste à confirmer.

**Mots-clés** : maladie de Lyme, isoxazoles, maladie vectorielle, *Borrelia burgdoferi*, *Ixodes scapularis*, Mille-Îles, micromammifères, *Peromyscus leucopus*

## Abstract

Lyme disease is the most common vector-borne disease in North America; the risk caused by the disease is partly due to its tick vector's tenacity and limited number of approaches to reduce its abundance in the environment. Few existing methods efficiently and safely target the principal host for the bacteria, white-footed mice *Peromyscus leucopus*. The objective of this thesis was to evaluate the efficacy of a new family of antiparasitic drug, isoxazolines, when passively administered as an oral bait to micromammals in endemic site for Lyme disease. Oral baits were distributed during the summer of 2018 and 2019 on five selected sites in the Thousand Islands National Park. Density of ticks in the environment was estimated using drag sampling while small mammal trapping allowed biodiversity and infestation (number of ticks per mouse) to be assessed. Impact of isoxazoline used (sarolaner or fluralaner), biodiversity and characteristics of environment (type of forests, temperature, humidity) were also evaluated. Linear mixed models were fitted to determine the impact of measured variables and treatment on infestation level and density of questing nymphs. Results show a significant reduction in tick load for mice captured on treatment plots compared to control plots for 3 out of 5 sites. However, we did not observe a significant reduction in the density of questing nymphs, probably due to the limited duration of the study. Density of nymphs followed interannual variation and was best explained by humidity levels at the time of sampling and plot-level host biodiversity. *Peromyscus spp.* infestation was linked to the sex (male being more infested) and body length of the mice, high density of questing larvae, year and month of capture and treatment applied to the microsite. Fluralaner showed to be more efficient at reducing mice average tick load. This study was the first to use oral sarolaner to treat the most important reservoir for the Lyme disease agent in the environment. Our protocol did not significantly reduce questing nymphs in the environment for the duration of this study but could potentially diminish Lyme disease human risk with long term use through reduced *Peromyscus* infestation.

**Keywords** : Lyme disease, isoxazolines, tick-borne disease, *Borrelia burgdoferi*, *Ixodes scapularis*, Thousand Islands, micromammals, *Peromyscus leucopus*

# Table des matières

<b>Résumé</b> .....	<b>3</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>5</b>
<b>Table des matières</b> .....	<b>6</b>
<b>Liste des tableaux</b> .....	<b>8</b>
<b>Liste des figures</b> .....	<b>9</b>
<b>Remerciements</b> .....	<b>12</b>
<b>Avant-propos</b> .....	<b>13</b>
<b>Chapitre 1 : Recension des écrits</b> .....	<b>15</b>
La maladie de Lyme.....	15
Transmission et Symptomatologie.....	15
Diagnostic .....	17
Traitement.....	17
L'agent .....	18
Le vecteur.....	19
Les facteurs environnementaux .....	21
Les hôtes .....	23
Épidémiologie.....	26
Les méthodes actuelles de contrôle et de prévention.....	28
Les isoxazolines .....	32
Conclusion .....	34
Objectifs et Hypothèses .....	36
<b>Chapitre 2: Article scientifique</b> .....	<b>38</b>
Abstract.....	39
Methods.....	42
Results.....	49
Discussion.....	59
Conclusion .....	63
Supplemental Material .....	65
References.....	66

<b>Chapitre 3 : Discussion générale .....</b>	<b>77</b>
Introduction.....	77
Effets du traitement.....	77
Résultats de la capture .....	80
Limites du projet.....	84
Applications et perspectives de recherche .....	87
<b>Conclusion .....</b>	<b>90</b>
<b>Références.....</b>	<b>91</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>111</b>
Annexe 1 .....	111
Annexe 2 .....	114
Annexe 3 .....	116

## Liste des tableaux

Tableau I. Résumé de la charge parasitaire en tiques pour chacune des espèces manipulées non traitées.....	81
Tableau II. Résumé du nombre de micromammifères capturés pour chaque espèce lors de la capture de 2008-2009 et 2018-2019 .....	82
Tableau III. Résultats de la capture et des données de prévalence sur les terrains d'étude des Milles-îles de l'étude de Lisa Werden .....	111
Tableau IV. Taille, distance à la frontière des États-Unis et coordonnées géographiques dans 5 sites étudiés dans le parc national des Milles-îles.....	114



## Liste des figures

Figure 1. Représentation schématique des parcelles constituant le terrain d'étude.....102

## Liste des sigles

PL: *Peromyscus leucopus*

LD: Lyme Disease

ha : hectare

g : gramme

cm: centimètre

m : mètre

GABACl:  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA)-gated chloride channels

H : heure

pH: potential hydrogène

°C: degrés Celsius

DON: Density of nymphs

DIN: Density of infected nymphs

PCR: Polymerase chain reaction

ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay

LB : Landon Bay

JC : Jones Creek

HI : Hill Island

TI: Thwartway Island

GI: Grenadier Island

ml : millilitre

min : minimum

kg : kilogramme

% : pourcentage

mg : milligramme

AM : avant-midi

PM : après-midi

AIC : Akaike information criterion

ANOVA : Analysis of variance

ADN: acide désoxyribonucléique

*Equipped with his five senses, man explores the universe around him and calls the  
adventure Science. - Edwin Powell Hubble*

## Remerciements

Je tiens à remercier mes codirecteurs de maîtrise, Patrick Leighton et Claire Jardine, pour leur soutien continu pendant mon parcours et leur confiance. Un merci particulier à tous les membres de l'équipe du Leighton Lab, qui par leur compétence et leur humour m'ont permis de passer par-dessus les embûches et les découragements.

Un chaleureux merci à tous les stagiaires de terrain pour leur travail, souvent difficile, sur le site du Parc National des Mille-Îles en Ontario. Un immense merci à mes deux complices de terrain, Stéphanie et Virginie, qui agissaient comme un deuxième « moi » quand je ne pouvais pas me dédoubler! Nos aventures de terrain resteront des souvenirs précieux, que ce soit en bateau dans la tempête ou en voiture, prises dans la boue. Merci à tous ceux qui nous ont accueillis pendant notre séjour en Ontario, l'hôtel Ramada de Gananoque, Peck's marina et bien sûr toute la belle équipe du Parc national des Mille-Îles. Un merci spécial au Horseblock Point Cottages pour leur grande accommodation, que ce soit pour nous fournir un lit supplémentaire ou pour nous avoir permis de laver nos pièges à souris sur leur quai!

Merci à Zoetis et à l'Université de Montréal pour leur soutien financier, sans lequel nous n'aurions pas pu réaliser ce projet.

Merci à mes parents, mes amis et mon amoureux de toujours m'encourager dans mes projets, ce sera (peut-être) mon dernier diplôme.

## Avant-propos

Les maladies vectorielles, c'est-à-dire impliquant un insecte hématophage transmettant la maladie d'un hôte infecté à un autre, sont responsables de 30% des maladies infectieuses à l'échelle mondiale. L'une d'entre elles, la maladie de Lyme, est émergente au Canada et constitue un défi tant socio-économique que pour la santé humaine et animale. En effet, depuis le premier cas identifié à l'intérieur de nos frontières dans les années 1980 (Watson 1976, (Bollegraaf 1988), les cas répertoriés par l'Agence de la santé publique du Canada ne cessent d'augmenter et de nouvelles zones endémiques pour la maladie ont été identifiées entre autres au Québec, en Ontario et au Manitoba (Artsob 1992).

La maladie de Lyme est causée par la bactérie spirochète *Borrelia burgdorferi*, dont la tique *Ixodes scapularis*, communément appelée la tique du chevreuil, est le vecteur pour l'est de l'Amérique du Nord. Lorsque la tique prend un repas de sang sur l'un de ses hôtes (micromammifères, oiseaux, chevreuils), elle peut lui transmettre la bactérie. En fonction de la compétence de l'hôte, celui-ci pourra à son tour infecter une tique saine. Un hôte est considéré compétent selon sa capacité à permettre le repas sanguin complet de la tique, incubé l'agent responsable de la maladie et réinfecter la tique en retour, contribuant ainsi au maintien de la bactérie dans la population de tiques (Brunner et al. 2008, Richter et al. 2011). La souris à patte blanche *Peromyscus leucopus* est reconnue comme le réservoir principal de *Borrelia* dans l'environnement et donc principalement responsable de l'augmentation de sa prévalence. La présence de la maladie est restreinte à la présence de son vecteur, à la présence et à la diversité de ses hôtes et à différents facteurs environnementaux (climat, précipitations, litière au sol, etc.) (Eisen et al. 2016). Malgré ces limitations, la maladie de Lyme est la maladie vectorielle la plus commune dans les régions tempérées, en plus d'être une préoccupation grandissante au Canada étant donné l'augmentation des cas diagnostiqués et l'étendue des régions endémiques (Kurtenbach et al. 2006, Ogden et al. 2008b, IRSC 2019).

Plusieurs protocoles d'intervention visant à réduire le risque de maladie de Lyme dans l'environnement ont déjà été tentés, que ce soit en visant directement les populations de tiques, en traitant ou altérant la composition des hôtes ou en modifiant l'environnement (Deblinger

1991, Curran et al 1993, Curtis 2011, Grear2014, Stafford 2017). Les méthodes de contrôle dirigées contre le réservoir principal de la bactérie, *Peromyscus leucopus*, ont obtenu des résultats prometteurs grâce au traitement antiparasitaire de ces rongeurs à l'aide de molécules acaricides, dont le fipronil et la perméthrine (Deblinger and al. 1991, Daniels 1991, Stafford 1992, Schulze and al. 2007, Eisen and Stafford 2020). Une alternative à ces substances toxiques et peu spécifiques sont les isoxazolines, une nouvelle classe de pesticides antiparasitaires déjà utilisée chez les animaux de compagnie. Apparues sur le marché en 2013, ces molécules récentes agissent sur les récepteurs GABA<sub>A</sub> particulièrement sensibles chez les invertébrés, expliquant leur grande innocuité (McTier et al. 2016, Prohaczik 2017, European Medicine Agency 2017, Sojka et al 2018).

Ce projet de recherche visait à évaluer l'efficacité du sarolaner et du fluralaner, deux molécules de la famille des isoxazolines, lorsqu'administré à la souris sauvage *Peromyscus leucopus*. Mon objectif était de déterminer l'efficacité du traitement de *Peromyscus* pour diminuer l'infestation (nombre de tiques par individu) de ce rongeur, réduisant ainsi la densité de tiques en terrain traité. L'impact de la molécule d'isoxazoline utilisée (sarolaner ou fluralaner), des caractéristiques de l'environnement (type de forêt, température, humidité) et la biodiversité d'hôtes disponibles furent également évalués.

# Chapitre 1 : Recension des écrits

Cette brève récession des écrits introduira le contexte scientifique entourant mon projet, et inclura une description de la maladie de Lyme et de la bactérie qui en est responsable, un aperçu du vecteur et de son écologie, un survol des méthodes de contrôle actuelles ainsi qu'une description des molécules utilisées et leur innocuité. Pour mettre en contexte l'environnement entourant la présente étude, la majorité de l'information présentée sera sur la tique *Ixodes scapularis* et son écologie en Amérique du Nord.

## La maladie de Lyme

### Transmission et Symptomatologie

La maladie de Lyme est une maladie vectorielle pouvant affecter l'humain, le chien, les équins et les bovins (Canadian Wildlife Health Center 2018). Plusieurs autres espèces peuvent être infectées par la bactérie responsable, *Borrelia burgdorferi*, mais ne développeront pas les symptômes associés à la maladie clinique. L'infection peut se développer chez l'animal susceptible à la suite de la morsure d'une tique porteuse de la bactérie responsable de la maladie. Chez l'homme, le risque de développer la maladie augmente avec la durée de la morsure, le degré d'engorgement de la tique au moment du retrait et un retrait incomplet de la tique (Mladenovic et al. 2010, Hofhuis et al. 2017). La prévalence de la maladie demeure relativement faible chez les personnes mordues par une tique (78/1546 selon Wilhelmson et al. 2016 et 7/40 selon Briciu et al. 2017) et ce risque ne semble pas augmenter si la tique est testée positive pour *Borrelia* au PCR; par exemple, seulement 45% des personnes infectées (c-à-d démontrant des symptômes et/ou séroconversion) dans l'étude de Wilhelmson avaient été mordus par une tique positive au PCR. Dans une seconde étude, seulement 4 des 64 personnes mordues par une tique positive pour *Borrelia* auraient développé des anticorps et une seule manifesta des symptômes de la maladie (Fryland et al. 2011). Ces résultats pourraient être expliqués partiellement par les faux-négatifs au test de détection de *Borrelia* chez la tique ou par les personnes ayant été mordus par une ou plusieurs autres tiques non détectées au moment de l'étude (CDPH 2020). Les manifestations cliniques de la maladie de Lyme chez l'humain affecté varient légèrement selon

la région et la souche de *Borrelia* impliquée (Postic et al. 1994). En Amérique du Nord, les symptômes peuvent être regroupés en 3 phases; la phase précoce locale, la phase précoce disséminée et la phase tardive disséminée (Steer et al. 2016). La première phase se manifeste par un érythème migrant : une rougeur entre 5 et 60 cm en forme de cible qui se développe au site de la piqûre. Ce signe classique n'est diagnostiqué toutefois que dans 60 à 80% des cas, mais peut persister jusqu'à 8 semaines (Ogden et al. 2008b, MAPAQ 2017). Les signes cliniques de la phase précoce disséminée surviennent dans les semaines/mois suivant la morsure et sont associés à la migration de la bactérie dans d'autres organes du corps. Ces symptômes peuvent inclure un syndrome grippal (fièvre, frissons, maux de tête, fatigue) qui se déclarent entre 3 et 30 jours suivant l'infection. Advenant l'absence de traitement, des signes plus graves peuvent se développer tels de la paralysie faciale, des douleurs musculaires et articulaires (60% des cas) ainsi que des troubles neurologiques (15% des cas) et cardiaques (rare) (Steer et al. 2016, Gouvernement du Canada 2017). La phase disséminée tardive fait référence à des douleurs articulaires chroniques qui peuvent persister même à la suite d'un traitement approprié (CDC 2019). Malgré un taux de mortalité faible, le fardeau sanitaire de la maladie est non négligeable en raison de son émergence et des difficultés diagnostiques qui sous-estiment son incidence (Bouchard 2013).

L'existence de la maladie clinique chez le chat est encore controversée; bien que plusieurs sites vétérinaires la mentionnent comme une possibilité (petMD 2009, MSD Manual 2018), aucune étude n'a encore démontré de lien entre la présence de la bactérie chez le félin et le développement de signes cliniques (Krupka et Straubinger 2010). Même l'inoculation expérimentale de *Borrelia burgdoferi* n'a pas entraîné de signes cliniques ou de lésions histologiques chez une colonie de chats de laboratoire (Burgess 1992). Chez les chiens, seulement une faible proportion des animaux affectés présentera des symptômes; une étude démontre que seulement 6 de 125 chiens séropositifs pour *Borrelia burgdoferi* ont développé les signes cliniques associés à la maladie de Lyme dans les 20 mois suivants, comparativement à 5/109 pour le groupe contrôle (Lavy et Magnarelli 1992). Ces symptômes incluent principalement des douleurs articulaires et une atteinte rénale (néphrite), mais possiblement aussi de la fièvre, de la léthargie et des nœuds lymphatiques augmentés. La plupart des chiens symptomatiques guériront d'eux-mêmes à l'intérieur d'une semaine, mais nécessiteront un



traitement advenant une récurrence cyclique des symptômes (Littman et al. 2018). Dans ces cas, une absence de traitement et une évolution chronique et dégénérative des atteintes cardiaques et nerveuses (rare) ou rénales peuvent être fatales pour l'animal. De façon analogue, les équins et les bovins expriment rarement la maladie clinique malgré la séropositivité de l'animal, auquel cas les symptômes sont similaires à ceux rencontrés chez les chiens : boiterie intermittente, fourbure, fièvre, léthargie, signes neurologiques, etc. La maladie de Lyme est souvent un problème de troupeau chez les bovins, qui peuvent alors montrer une baisse de production laitière (Parker et White 1992).

## **Diagnostic**

Au Canada, la maladie de Lyme est à déclaration obligatoire depuis 2009. Le diagnostic officiel de la maladie chez l'humain est basé sur des signes cliniques compatibles et une confirmation en laboratoire, soit par la mise en évidence de *Borrelia* à partir d'un échantillon clinique ou par la détection d'ADN bactérien par PCR (Gouvernement du Canada, 2021b). La sensibilité du diagnostic basé sur la présence d'anticorps est affecté par la durée de la maladie, puisque seulement 20–50% des patients symptomatiques sont positifs lors d'infection aiguë, mais ce pourcentage augmente à 60–80% après 2–3 semaines de traitement et atteint virtuellement 100% après 4–8 semaines de maladie non traitée (Steer et al. 2016). Le diagnostic sérologique peut être biaisé par le fait que les anticorps persistent chez le patient infecté, et que la majorité des personnes séroconvertis à la suite de la morsure d'une tique ne démontreront jamais de symptômes liés à la maladie (Kalish et al. 2001, Steer et al. 2016).

## **Traitement**

La bactérie est sensible à plusieurs antibiotiques, ceux-ci demeurent donc le traitement de choix pour la maladie de Lyme. Dans une étude expérimentale, tous les antibiotiques choisis ont démontré une efficacité similaire, sans preuve actuelle de résistance (Wormser et al. 2006). L'utilisation de doxycycline, amoxicilline ou cefuroxime axetil selon leur posologie respective sont tous des choix judicieux. Les patients avec des atteintes plus sévères (neurologiques, cardiaques) ou chroniques peuvent nécessiter des traitements supplémentaires comme l'hospitalisation, l'administration d'antibiotiques intravasculaire (Ceftriaxone) et des thérapies de soutien (anti-inflammatoire, injection de corticostéroïdes pour les douleurs arthritiques, etc.)

(Steer et al. 2016). Une dose unique de Doxycycline 200mg peut être donnée oralement en prophylaxie aux personnes mordues par une tique, mais n'est recommandée que si la tique est une nymphe ou un adulte engorgé (attachement estimé à 36h au moins), la prévalence doit atteindre 20% dans la région concernée et le traitement doit avoir lieu au maximum dans les 72h suivant la morsure (Wormser et al. 2006).

## **L'agent**

L'agent responsable de la maladie de Lyme est la bactérie spirochète *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Ce regroupement inclut toutes les espèces de *Borrelia* responsable de la maladie, c'est-à-dire *Borrelia burgdorferi sensu stricto* en Amérique du Nord et *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii* et *Borrelia burgdorferi sensu stricto* en Europe (Baranton et al. 1992, Piesman et Gern 2005). Neuf autres espèces de *Borrelia* ont été identifiées jusqu'à maintenant, mais auraient une importance clinique moindre (Stübs et al. 2009). L'embranchement des *Spirochaetes*, dont fait partie *Borrelia*, est caractérisé par la présence chez ces bactéries de filaments axiaux de forme hélicoïdale situés entre la membrane et la paroi cellulaire et ayant un rôle et une composition analogue aux flagelles bactériens. Cette morphologie particulière pourrait faciliter la pénétration et le déplacement de l'agent dans les différents tissus tout en protégeant ces filaments axiaux hautement immunogènes du système immunitaire de l'hôte (Charon 2012, Radolf et al. 2012). En effet, des variations entre autres dans le pH et la température, des facteurs qui varient lorsque la tique commence à prendre son repas sanguin, permettraient d'exprimer différentes protéines nécessaires au stade actuel de la bactérie. Par exemple, les protéines exprimées favorisent l'adhésion de la bactérie aux intestins dans la tique et l'évasion du système immunitaire dans l'hôte (Anguita et al. 2003, Samuels 2011). Suite à la piqûre, la bactérie demeure dans la peau de l'hôte avant de coloniser d'autres tissus comme les articulations et le cœur, induisant alors les symptômes systémiques de la maladie. En effet, les lipoprotéines présentes sur la bactérie activent les récepteurs présents à la surface des macrophages de l'hôte. C'est la relâche de cytokines inflammatoires par ces cellules du système immunitaire qui induiraient les manifestations cliniques de la maladie (Benhnia et al. 2005, Steer et al. 2016). La persistance de l'infection est finalement permise par la capacité de la bactérie à s'échapper de la réponse immunitaire, par exemple en variant ses antigènes de surface à l'aide de la recombinaison (Anguita et al. 2003).

Chez *Ixodes scapularis*, la transmission transovarienne de *Borrelia* est inexistante ou rare; l'infection d'une tique est donc dépendante de la prise du repas de sang sur un hôte réservoir infectieux (Schoeler et Lane 1993, Rollend et al. 2013). La transmission dite horizontale est également possible, lorsque la larve et la nymphe se nourrissent simultanément sur le même hôte. En effet, bien que la souris à patte blanche puisse être infectée par *Borrelia* de façon persistante, une étude de Lindsay et al. démontre que la souris est surtout infectieuse pour les tiques dans les 2–3 semaines suivant sa propre infection (Donahue et al. 1987, Lindsay et al. 1997). Les climats qui encouragent l'activité simultanée des larves et des nymphes (par exemple un automne froid qui force les larves à se nourrir au printemps suivant) peuvent ainsi encourager la transmission de maladies vectorielles (Gatewood et al. 2009). Finalement, la tique acquérant *Borrelia* sur un hôte compétent demeure infectieuse au travers de ses mues, caractéristique essentielle à son rôle de vecteur (Magnarelli et al. 1986, Godsey et al. 1987).

## **Le vecteur**

Mondialement, quatre tiques du complexe *Ixodes ricinus* sont responsables de la transmission de la maladie de Lyme. En Amérique du Nord, la tique vectrice de *Borrelia burgdoferi sensu stricto* est *Ixodes scapularis* sur la côte est et *Ixodes pacificus* sur la côte ouest. De l'autre côté de l'Atlantique, la tique *Ixodes ricinus* est considéré le vecteur principal de *Borrelia* en Europe, tandis qu'*Ixodes persulcatus* revêt le même rôle pour une partie de la Russie, de l'Asie, des pays baltiques, de la Finlande et de la Mongolie. *Ixodes persulcatus* transmet les pathogènes *Borrelia afzelii* et *Borrelia garinii* mais non *Borrelia burgdoferi sensu stricto*, tandis qu'*Ixodes ricinus* est vecteur pour les 3 espèces reconnues comme responsables de la maladie (Steer et al. 2016).

Du point de vue phylogénétique, les tiques appartiennent à la classe *Arachnidae*, à l'ordre des *Acari* et au sous-ordre *Ixodida*. La famille *Ixodidae*, dont fait partie *Ixodes*, est composée de tiques dures qualifiées par leur plaque dorsale, ou bouclier, sclérotisé. *Ixodes* se différencie des autres membres de sa famille par la position antérieure de son sillon anal (INSPQ, 2014). Par opposition, les tiques molles (de la famille des *Argasidae*) présentent un exosquelette flexible (Anderson 2002, Anderson et Magnarelli, 2008). Une autre spécificité qui

distingue ces deux familles est leur comportement de recherche d'hôtes; les tiques molles ont tendance à demeurer dans les terriers et crevasses des animaux qu'ils parasitent, les rendant moins susceptibles à piquer l'humain. Les tiques dures sont majoritairement nidifuges, c'est-à-dire qu'elles recherchent leur proie dans les environnements ouverts (Anderson 2002). Elles peuvent même émerger de la végétation pour rechercher leur hôte. L'homme est donc à risque de se faire piquer dans une variété d'environnement allant de la litière de feuilles aux herbes hautes (Eisen et al. 2016).

Hématophage obligatoire, la tique utilise ses chélicères et une pièce buccale spécialisée appelée hypostome pour percer l'épiderme de l'hôte; ses glandes salivaires lui permettent ensuite d'optimiser son repas de sang en sécrétant des enzymes qui agrandissent le site de la morsure jusqu'aux capillaires et permettent également de concentrer le sang (Nuttall et Labuda 2003).

Le cycle de vie de la tique *Ixodes* est hautement variable selon l'espèce et les particularités géographiques et climatiques de chaque région (Steer et al. 2016). Au Canada, tous les stades de la tique recherchent activement un hôte pendant la période chaude de l'année, typiquement lorsque la température est supérieure au point de congélation (Sonenshine 1993). Le cycle d'*Ixodes scapularis* se déroule généralement sur une période de 2 ans. Au cours de ce cycle, la tique passera à travers 3 stades différents (excluant l'œuf), chacun devant se nourrir sur un nouvel hôte. Le premier stade de la tique, soit la larve, prend son premier repas de sang la première année, entre le mois de juillet et de septembre. Contrairement aux deux autres stades qui sont octopodes, les larves ont seulement 3 paires de pattes. La larve se gorge sur son hôte pendant 3 à 5 jours, avant de se laisser tomber au sol. Elle passera ensuite l'hiver sous forme de nymphe, avant de se nourrir une seconde fois l'année suivante, entre le mois de mai et juillet. Si la nymphe ne parvient pas à trouver un hôte, elle est parfois capable de survivre jusqu'à l'année suivante. La nymphe gorgée mue ensuite en tique adulte, et prendra son dernier repas de sang entre le mois d'octobre de cette même année et le mois de juillet suivant. La femelle repue pondra entre 2000 et 3000 œufs sur le sol de la forêt, au mois de mai et juin de la 3<sup>e</sup> année; ceux-ci éclore au mois d'août (Spielman et al. 1985, Lindsay et al. 1998, Piesman et Gern 2005). En support à l'hypothèse qui soutient que la tique est hautement dépendante de son hôte pour

ses déplacements, les larves n'ayant pas complété un repas sont retrouvées dans un rayon de moins d'un mètre autour du site de la ponte (Stafford 1992).

En laboratoire, sous condition optimale, le cycle complet de la tique peut se dérouler aussi rapidement qu'en 230 jours, mais peut prendre jusqu'à 4 ans sur l'ensemble du territoire d'*Ixodes scapularis*. Par exemple, les larves n'ayant pas trouvé d'hôte à l'automne peuvent prendre leur premier repas de sang seulement au printemps suivant; le pic d'activité de ce stade est donc parfois bimodal à notre latitude (Lindsay et al. 1999). Ces délais s'expliquent par des pauses dans le développement ou dans la recherche d'hôte de la tique, en fonction des conditions environnementales et de la facilité à trouver un hôte. Un délai majeur est relié aux températures, humidités ou ensoleillements qui sont incompatibles avec la recherche d'hôtes; la tique entre alors dans une pause programmée génétiquement appelée quiescence. Selon plusieurs auteurs, ce terme serait le plus approprié pour désigner l'arrêt du comportement de recherche d'hôtes ayant lieu durant l'hiver (Belozarov et Naumov 2002, Belozarov et al. 2002). Par contraste, la diapause comportementale désignerait un arrêt dans la recherche active d'hôte malgré des conditions environnementales favorables. Finalement, la diapause développementale constitue un délai dans l'oviposition (la ponte d'œuf) suivant l'accouplement et le dernier repas de sang de la femelle adulte (Oliver 1989, Sonenshine 1993).

L'accouplement entre le mâle et la femelle adulte se fait généralement sur l'hôte, mais la fécondation peut également se produire dans l'herbe, avant le dernier repas de sang de la femelle (Kiszewsky et al. 2001). D'ailleurs, les mâles ne se nourrissent pas complètement au stade adulte; ils peuvent consommer de petites quantités de sang en s'accrochant superficiellement à l'hôte. Leurs pièces buccales spécialisées leur permettent de rester en place pendant le transfert du sperme à la femelle (Spielman et al. 1985).

## **Les facteurs environnementaux**

La survie, le développement et la reproduction d'*Ixodes scapularis* sont directement affectés par les températures extrêmes, les précipitations et les caractéristiques du terrain (Lindsay et al. 1995 et 1998, Vail et Smith 1998). Sensible à la dessiccation, il a été démontré que les tiques préfèrent une litière abondante au sol qui leur assurent un pourcentage élevé

d'humidité tout en les protégeant des chutes de neige et des rayons du soleil (Linske et al. 2019). C'est d'ailleurs cette couche de feuilles et de débris végétaux qui protège la tique des températures sous zéro fréquentes durant l'hiver en Amérique du Nord. La couverture de neige servirait d'isolation supplémentaire importante pour la survie de l'araignée, puisque la mortalité hivernale serait associée à un manque de neige (par exemple à la suite d'un redoux) combiné à des températures froides (Ogden et al. 2009a, Eisen et al. 2017). Sans cet abri, la population de tiques décroît rapidement; environ 50% des tiques ne peuvent survivre plus de 8h à des températures entre  $-10.8^{\circ}\text{C}$  et  $-16.4^{\circ}\text{C}$ , variant selon le stade de la tique et son niveau d'engorgement (Vandyk et al. 1996). Par ailleurs, un nombre restreint de degrés-jours en haut de  $0^{\circ}\text{C}$  sont associés à une survie moindre et un développement inférieur chez les populations de tiques, en plus de limiter le comportement de recherche d'hôtes (Vail et Smith 2002, Ogden et al. 2005). À l'inverse, une augmentation du taux de mortalité est notée à partir de  $30^{\circ}\text{C}$  alors que des températures extrêmes de  $40^{\circ}\text{C}$  entraînent la mort à la suite de dommages à l'intertégument, chargé d'empêcher l'évaporation d'eau (Ogden et al. 2004).

La nécessité d'une litière abondante au sol pourrait expliquer pourquoi les tiques sont retrouvées en plus grande densité sous le couvert forestier plutôt qu'en bordure des forêts ou dans les clairières (Piedmonte et al. 2018). À cet effet, la présence de la tique a été corrélée positivement aux habitats de forêt de feuilles décidues (provenant d'arbre à bois durs, tel l'érable et le chêne particulièrement), à un climat de type sec à mésique ainsi qu'un sol de type alfisol (de texture sableuse ou argileuse) (Ginsberg et Zhioua 1996, Guerra et al. 2002). Les forêts de conifères peuvent aussi abriter une forte densité de tiques; l'étude effectuée par Lord au New Jersey suggère même que les forêts de pins blancs et de cèdre rouge de l'Ouest abritent la densité de tiques la plus élevée parmi les types d'habitats évalués (Lord 1995). Ces résultats contrastent avec l'expérimentation de Ginsberg et Zhioua, qui rapporte une survie augmentée des tiques dans les forêts décidues; ces différences pourraient être en partie expliquées par des variations dans les espèces d'arbres composant l'habitat ainsi que par des disparités dans l'abondance relative des hôtes (Ginsberg et Zhioua 1996).

L'impact différentiel des différents facteurs abiotiques sur la densité de tiques dans un habitat reste à déterminer. Par exemple, une étude faite par Johnson et al. démontre que la végétation est le facteur ayant le plus d'influence sur la densité de tiques parmi les onze facteurs testés, la présence d'*Ixodes scapularis* étant surtout associée aux forêts et bois tempérés (Johnson et al. 2016). À l'opposé, une étude ontarienne mise en place par Lindsay et al. ne démontre pas de lien statistique entre le nombre de tiques adultes récoltées à la flanelle et le type d'habitat, mis à part pour les forêts d'érables qui habitent une densité significativement plus élevée de tiques que les forêts de pins blancs. Lindsay et al. ont plutôt supporté l'hypothèse que les variations dans le microclimat à l'intérieur d'un habitat est le facteur qui influence le plus la survie des tiques, en particulier l'humidité (Lindsay et al. 1999). Finalement, certaines variations interannuelles dans le climat, par exemple une période de sécheresse ou un hiver froid, auraient un impact négatif sur la survie des tiques dans l'environnement (Berger et al. 2014), bien que l'effet du climat pourrait plutôt se faire indirectement via son impact sur les populations d'hôtes (Ostfeld et al. 2006b). Des précipitations anormalement abondantes pourraient avoir un effet positif sur les populations de tiques, possiblement parce que l'humidité élevée favoriserait une meilleure survie et une augmentation du comportement de recherche d'hôtes (McCabe et Bunnell 2004). Toutefois, certaines études tendent à indiquer que ces variations interannuelles n'auraient qu'un impact limité à long terme sur les populations de tiques (Ostfeld et al. 2001, 2006b, Schulze et al. 2009).

## Les hôtes

Les hôtes permettant à *Ixodes scapularis* de prendre son repas de sang en Amérique du Nord varient selon les différents stades de développement de la tique. Les stades immatures de la tique sont qualifiés de généralistes dans leurs choix d'hôtes, c'est-à-dire qu'ils peuvent se nourrir sur une variété phylogénétique d'animaux qui partagent leur niche écologique (McCoy et al. 2013). Les larves et les nymphes se nourrissent donc facilement sur une diversité de reptiles, oiseaux, ongulés, insectivores, rongeurs et lagomorphes (Casher et al. 2002, LoGiudice et al. 2003). Ces nombreux hôtes potentiels possèdent toutefois une capacité variable d'agir comme réservoir pour *Borrelia*. Ayant une habileté inégale à transmettre le pathogène à la tique lors de son repas de sang, chaque espèce apporte donc une contribution différente à la prévalence du spirochète dans la population d'arachnide (Piesman et Gern 2004). Les rongeurs sont

toutefois considérés comme les hôtes les plus importants pour les stades immatures de la tique, soit la larve et la nymphe (Gross 2006, Clark et al. 2008, Han et al. 2015). Les espèces de micromammifères agissant en tant qu'hôtes sont variées et dépendent des populations présentes dans chaque niche écologique, mentionnons entre autres la grande musaraigne (*Blarina brevicauda*), le tamia rayé (*Tamias striatus*), le muscardin (*Muscardinus avellanarius*) et le rat brun (*Rattus norvegicus*). Seulement certains de ces rongeurs sont de bons réservoirs pour l'agent de la maladie de Lyme; par exemple, une étude de Richter et al. tenta d'étudier la compétence relative de plusieurs espèces de rongeurs en permettant l'infestation par des nymphes infectées, puis en testant la présence de la bactérie chez des nymphes s'étant nourries sur ces rongeurs en tant que larves non infectées. Chaque espèce testée démontra des résultats différents dans la rapidité à laquelle elle devint infectée, dans la durée de l'infection, la proportion de larves naïves qui devinrent infectées en tant que nymphes, mais aussi dans la proportion de larves qui restèrent attachées jusqu'à l'engorgement complet (Richter et al. 2011). D'ailleurs, un hôte de qualité qui est également un bon réservoir doit non seulement incuber l'agent et être capable de le transmettre, mais doit pouvoir permettre l'attache et le repas de sang complet de la tique (LoGiudice et al. 2003). Par exemple, l'opossum et l'écureuil tueraient entre 83 et 96% des tiquent qui les infestent via leur comportement de toilettage (Keesing et al. 2009).

Malgré la diversité d'hôtes potentiels, la souris à pattes blanches (*Peromyscus leucopus*) serait l'hôte compétent le plus important pour les stades immatures de la tique, dû à sa capacité d'infecter une forte proportion des tiques qu'elle nourrit et sa forte présence dans une variété d'habitats (Mather et al. 1989, LoGiudice et al. 2003, Brisson et al. 2007). Plusieurs études ont d'ailleurs constaté que la prévalence de Lyme était particulièrement élevée dans les habitats avec une forte proportion de *Peromyscus leucopus*; trois hypothèses opposées virent ainsi jour pour expliquer le lien entre la densité et la diversité des hôtes et la proportion de tiques infectées par *Borrelia*. La première hypothèse est celle de la dilution; elle suppose que dans un environnement avec une grande biodiversité d'hôte, l'abondance relative de la souris *Peromyscus*, le réservoir le plus compétent pour *Borrelia* est nécessairement moins élevé. Une plus grande proportion de tiques se nourrissent alors sur des hôtes incompetents qui ne participent pas à la dissémination de la bactérie dans la population de tiques, et la prévalence de la maladie est donc plus basse (Schmidt et Ostfeld 2001, Keesing et al. 2006). L'hypothèse



opposée est celle de l'amplification, qui suggère au contraire qu'un plus grand choix d'hôtes contribue à augmenter la prévalence; le mécanisme derrière ce phénomène reste ambigu, mais plusieurs auteurs suggèrent qu'une plus grande variété d'hôtes est compatible avec une plus grande densité d'hôtes, donc une plus grande abondance de tiques. Dès lors, même si la proportion d'acariens infectés diminue, le risque humain demeure plus élevé via une plus grande densité de tiques dans l'environnement (Keesing et al. 2006, Ogden et Tsao 2009, Faust et al. 2017). Finalement, une dernière hypothèse, celle de la densité, vient également s'opposer à celle sur la diversité. Elle suggère que la densité de nymphes infectées dans l'environnement est seulement conséquence de la densité de l'hôte compétent primaire, sans relation avec la diversité des autres hôtes présents (Ostfeld et al. 2001, Begon 2008). Aucun consensus ne semble ressortir dans la littérature pour départager ces hypothèses, probablement parce que les conclusions des études paraissent dépendre grandement des caractéristiques propres à chaque niche écologique étudiée.

En région où l'abondance de la souris *Peromyscus leucopus* est moindre, d'autres petits mammifères ont également une importance en tant qu'hôte réservoir, tels le campagnol (*Microtus spp.*) et la grande musaraigne (*Blarina brevicauda*) (Piesman et Gern 2005). D'ailleurs, le protocole mis en œuvre par Brisson et al. en 2007 permet de démontrer que les musaraignes sont responsables de 55% des tiques infectées dans le terrain d'étude situé dans l'état de New York, contre seulement 25% pour la souris à patte blanche (Brisson et al. 2007). Dans les habitats avec une faible densité de *Peromyscus*, d'autres micromammifères se subsistent comme hôte principal pour la larve et la nymphe, comme dans cette étude dans le Maine où le rat brun est devenu le réservoir principal sur une île exempte de souris, maintenant une forte prévalence de 60% dans la population de tiques (Smith et al. 1993).

Le choix d'hôte de la tique adulte est restreint aux plus gros mammifères; le cerf de Virginie étant l'hôte le plus important pour *Ixodes scapularis* en Amérique du Nord (Martin et al. 1981, Eisen et al. 2017). La présence de ce cervidé assure ainsi l'établissement et le maintien des populations de tiques, mais dû aux propriétés lytiques du sérum de cette espèce, le chevreuil serait un mauvais réservoir pour l'agent de la maladie de Lyme et ne contribuerait donc pas à augmenter la proportion de tiques infectées (Rand et al. 2003). Le pouvoir bactéricide du sérum

de cette espèce aurait même un rôle prophylactique en tuant le spirochète directement dans les intestins de la tique infectée, au début de son repas de sang (Ullmann et al. 2003). D'autres espèces de chevreuil auraient un rôle à jouer similaire dans le cycle enzootique du spirochète, c'est-à-dire qu'ils favorisent une population nombreuse de tiques, mais diminuent la proportion de tiques infectées avec *Borrelia burgdoferi* (Kurtenbach et al. 1998). Occasionnellement, la tique adulte peut également se nourrir sur des animaux domestiques, tels le chat et le cheval, et parfois sur l'humain (Morshed et al. 2006). En outre, l'ours noir pourrait être un hôte compétent, mais est de faible importance due à son nombre réduit (Kazmierczak et al. 1988). Les oiseaux auraient un double rôle à jouer dans le cycle épidémiologique de la maladie; les oiseaux porteurs de tiques contribuent à introduire l'arthropode et la bactérie dans de nouvelles niches écologiques au travers de la migration sur de courtes ou longues distances (Ogden et al. 2008c, Buczek et al. 2020). Les passériformes sont des réservoirs d'efficacité variable; le Merle d'Amérique étant par exemple un hôte compétent pour le spirochète tandis qu'à l'opposé, le Tohi à flanc roux semble incapable d'infecter les stades immatures de la tique en conditions expérimentales (Ginsberg et al. 2005). Finalement, d'autres espèces peuvent servir d'hôtes en fonction de l'habitat; dans le sud-ouest de l'Amérique, le lézard serait un hôte important pour les stades immatures de la tique, mais possède aussi un sérum lytique pour la bactérie (Swei et al. 2011). Ces reptiles peuvent avoir un rôle important, mais variable dans le cycle de la tique, même dans le nord-est de l'Amérique. Une étude menée par Glery et Ostfeld dans l'état de New York et du Maryland semble même indiquée que le scinque pentaligne, une espèce de lézard, aurait un effet de dilution significatif sur la prévalence de *Borrelia* en agissant comme hôte incompetent, alors que son cousin le lézard épineux *Sceloporus undulatus* n'aurait pas d'effet significatif sur la prévalence du spirochète (Glery et Ostfeld 2007). La prévalence de la bactérie, et donc le risque humain, est donc hautement dépendante des hôtes disponibles dans la niche écologique (Eisen et al. 2016).

## Épidémiologie

En juin 2020, le gouvernement du Québec indique que la maladie de Lyme est endémique dans le nord et l'ouest de l'Estrie, dans une grande partie de la Montérégie, dans le sud-ouest de la Mauricie et du sud du Québec et dans le sud-ouest de l'Outaouais (gouvernement

du Québec 2020). Pour qu'une région soit considérée endémique, tous les stades de la tique doivent y être retrouvés pendant au moins 2 années consécutives (Adam-Poupart et al. 2019). Au Québec, les cas diagnostiqués de maladie de Lyme chez l'humain sont passés de 125 en 2014 à 500 en 2019. En Ontario, les régions reconnues endémiques sont les côtes nord du Lac Érié et du Lac Ontario, la région de Kingston, le parc provincial The Pinery, le nord-ouest de l'Ontario près du Lac des bois et certaines parties du parc national des Mille-Îles (gouvernement du Canada 2020). Pour l'ensemble du Canada, les cas déclarés ont bondi de 144 en 2009 à 1487 en 2018. Néanmoins, une étude se basant entre autres sur les cas rapportés aux États-Unis et chez les chiens, une espèce sentinelle, suggère qu'environ un tiers seulement des cas de maladie de Lyme seraient diagnostiqués et comptabilisés en région d'émergence pour la maladie de Lyme (Ogden et al. 2019). Au Canada, l'évolution de la prévalence de Lyme et son introduction dans de nouvelles niches écologiques est évaluée via la surveillance passive (par exemple, la soumission volontaire de tiques par les cliniques médicales humaines et vétérinaires) et active (par exemple, la collecte de tiques dans l'environnement par la technique de flanelle) (Ogden et al. 2010).

Pour s'établir dans un nouveau territoire, la tique doit bien entendu y trouver un habitat et un climat propice à sa survie et à la complétion de son cycle ainsi qu'une densité suffisante d'hôte sur lesquels se nourrir. Plusieurs limites peuvent donc empêcher l'établissement de l'acarien, comme des températures trop froides ou trop chaudes, un climat trop sec ou à l'inverse, un terrain inondable, de même qu'une impossibilité de trouver un hôte avant l'épuisement des réserves d'énergie de la tique (Eisen et al. 2017). Comme mentionné précédemment, la température est un des facteurs principaux qui influencent les mécanismes régissant la durée de chaque stade développemental. L'étude de Ogden et al. mise en œuvre en 2004 démontre bien que la transformation entre les stades et le délai d'oviposition (la ponte des œufs) s'accélèrent au fur et à mesure que la température est augmentée expérimentalement (Ogden et al. 2004). En prenant compte du taux de mortalité journalier auquel est exposée une tique dans l'environnement, la durée du cycle de vie affecte nécessairement les chances de survie de la tique. Donc, plus les tiques se trouvent dans un climat chaud, plus elles se reproduisent rapidement et plus leur densité est élevée (Ogden et al. 2014). C'est d'ailleurs le climat plus froid au nord du Canada qui empêcherait l'établissement des populations de tiques,

tel que prédit par des modèles statistiques qui modélisent l'impact du climat sur le cycle de vie de l'acarien et sa survie (Leighton et al. 2012, Ogden et al. 2006 et 2014). À l'Ouest, c'est le climat plus sec des prairies qui empêcherait l'établissement d'*Ixodes*, sensible à la dessiccation, bien que cette espèce de tiques soit tout de même présente dans les terrains boisés du Midwest (Rynkiewicz 2014). Malgré ces limitations, *Ixodes scapularis* est maintenant endémique dans un nombre grandissant de régions du sud-est du Canada, probablement dû aux températures plus chaudes des dernières années qui sont compatibles avec l'établissement des populations de tiques. Les gros mammifères comme le chevreuil ainsi que les oiseaux seraient les hôtes responsables des déplacements de l'acarien (Madhav et al. 2004, Ogden et al. 2009a). Les prédictions basées sur la modélisation mathématique suggèrent également que le réchauffement climatique doublera le nombre de niche écologique propice à l'acarien dans le nord et le centre de l'Amérique d'ici 2080, mais qu'en contrepartie les populations de tiques se rétracteront du sud des États-Unis (Brownstein et al. 2005, Ogden et al. 2006).

Éventuellement, la présence de tiques dans de nouvelles niches écologiques pourrait introduire ou amplifier la présence de plusieurs pathogènes vectoriels endémiques en Amérique du Nord, comme la babésiose (causée par le protozoaire *Babesia microti* ou *Babesia duncani*) et l'anaplasmose (causées par la bactérie *Anaplasma phagocytophilum*). Lorsqu'une tique est porteuse de deux pathogènes différents, on parle alors de co-infections; bien que rare, le patient mordu par la tique peut alors montrer des symptômes plus sévères reflétant l'infection simultanée par les différents pathogènes (National Institute of Allergy and Infectious Diseases 2021).

## **Les méthodes actuelles de contrôle et de prévention**

Bien que le cycle de transmission et les facteurs biotiques et abiotiques favorisant la présence de la maladie soient de plus en plus compris, peu de moyens préventifs existent à l'heure actuelle pour s'en protéger. En effet, un des meilleurs moyens de prévention préconisés présentement consiste à éviter de se faire piquer par une tique en zone endémique pour la bactérie. À travers les médias et les professionnels de la santé, la population est sensibilisée aux comportements à privilégier ; on conseille par exemple de se limiter aux sentiers balisés lors de

promenade en forêt, de porter des vêtements longs et d'appliquer un produit insectifuge contenant du DEET sur ses vêtements (Salafsky 2000, gouvernement du Canada 2017). De plus, on recommande de glisser ses pantalons dans ses chaussettes pour éviter que les tiques atteignent la peau en remontant le long des jambes, et on préconise un examen soigné de tout notre corps au retour d'une activité extérieure (Clark 2008). Malgré le fait que ces bonnes habitudes ne diminuent pas directement le risque de maladie de Lyme dans l'environnement, plusieurs études démontrent que la sensibilisation reçue par un individu augmente la probabilité que celui-ci adopte le comportement protecteur. Ce changement d'attitude pourrait avoir un impact sur ses chances de contracter une maladie transmise par les tiques (Malouin 2003, Daltroy 2007).

Un autre volet des méthodes actuelles de contrôle des tiques est l'altération de l'environnement. Étant dépendante de la litière au sol pour la protéger de la dessiccation, on peut tenter de réduire la présence de tiques en coupant l'herbe rase et en retirant manuellement la litière au sol (gouvernement du Canada 2017). Bien que fastidieuses et peu pratiques en région boisée, ces techniques peuvent s'avérer très efficaces sur de petits territoires, comme le jardin d'une résidence privée (Schulze 1995). Une méthode encore plus radicale du contrôle de la litière est l'utilisation d'incendies contrôlés ; ces incendies étant bénéfiques dans certains écosystèmes (par exemple une forêt de pins), cette pratique n'est toutefois pas appropriée pour tous les types d'environnement (Padgett 2009, Gleim 2019). Les résultats sur la diminution des tiques semblent mitigés, certaines études démontrent que cette solution drastique ne serait que temporaire (Stafford 1998, Horak 2006, Gleim 2019). Le protocole à suivre pour un résultat efficace serait aussi important puisque des incendies d'intensité et d'étendue insuffisantes causeraient au contraire une augmentation de la densité de tiques ; les hôtes seraient plus abondants dans ces environnements devenus soudainement plus favorables (Horak 2006, MacDonald 2018).

Également, plusieurs études ont tenté de réduire la densité de tiques en répandant des produits acaricides dans l'environnement. Un protocole mis en place par Curran et al. a permis de comparer l'efficacité de 3 produits insecticides commerciaux, lorsqu'utilisés pour traiter un territoire endémique pour la maladie de Lyme. Tous les produits testés ont montré une efficacité significative à diminuer le nombre de nymphes présentes en région traitée pour toute la durée

de l'étude (Curran et al 1993). Les désavantages évidents de l'utilisation de ce genre de produits incluent l'atteinte de population d'arthropodes non visés (Schulze 2005), l'apparition de résistance (Miller 2007) et les dangers pour la santé humaine (Curran et al. 1993, Llewellyn 1996). De plus, la fenêtre de temps où le traitement doit être appliqué pour un résultat optimal est étroite et peut être difficile à évaluer (Deblinger 1991). L'utilisation restreinte et dirigée de ces molécules pourrait permettre de diminuer les effets négatifs de leur distribution à grande échelle. À cet effet, plusieurs protocoles préconisent l'administration spécifique d'acaricide aux hôtes de la tique. Un protocole plus similaire à celui présenté dans ce document a été tenté par Deblinger et al.; des appâts contenant des boules de coton imprégnées de perméthrine étaient utilisés pour traiter les souris résidentes des terrains visés (Deblinger et al. 1991). Ce type de design semble plus efficace pour diminuer la densité de tiques dans l'environnement ainsi que sur les micromammifères, tout en réduisant de manière subjective le nombre de piqûres de tiques subit par les visiteurs et employés du site traité. De manière similaire, les cerfs résidants d'une région endémique peuvent être éliminés ou traités, afin de diminuer la densité de tiques dans cet environnement. En effet, bien que n'étant pas un réservoir efficace pour la bactérie *Borrelia*, les cerfs sont un hôte important pour les stades matures de la tique, permettant à l'arachnide de compléter son cycle de vie. L'éradication des cerfs d'un territoire est donc une méthode très efficace d'élimination des tiques, spécialement lors d'absence d'hôtes alternatifs pour la tique adulte (Rand 2004). Plusieurs dispositifs existent pour traiter les cerfs, par exemple en administrant oralement ou topiquement un médicament acaricide (Stafford 2017). Le chevreuil, attiré par la nourriture d'une station de traitement, rentrera en contact avec des rouleaux imbibés d'acaricide, et se traitera ainsi en se nourrissant. Démontrant des résultats variables selon l'environnement et la densité des stations (Curtis 2011, Grear 2014), cette méthode comporte toutefois plusieurs désavantages comme le fait de nourrir ces hôtes qui pourraient conséquemment augmenter en nombre, ou alors inciter l'agrégation des chevreuils à proximité des sources de nourriture et ainsi augmenter l'incidence de maladies contagieuses (Clark 2008).

La vaccination humaine contre la maladie de Lyme semble être une option intéressante pour la population des régions à risque. En 1998, un vaccin approuvé par la FDA fait son apparition sur le marché américain. Ce vaccin, appelé LYMErix™, utilise un mécanisme d'immunisation particulier : la personne vaccinée produit des anticorps contre une protéine

exprimée par la bactérie seulement lorsqu'elle se trouve encore dans les intestins de la tique. Lorsque celle-ci pique et commence à se gorger du sang contenant les anticorps, la bactérie est tuée directement dans la tique avant de pouvoir infecter la personne immunisée (Sigal 1998). Bien que montrant des résultats encourageants lors de sa mise en marché, le vaccin fut retiré en 2001 à la suite de nombreuses plaintes d'effets secondaires entraînant une baisse drastique des ventes (Nigrovic 2007). Dans notre contexte d'émergence actuel, une compagnie pharmaceutique française travaille à relancer un vaccin contre la maladie de Lyme (Valneva 2020). Plusieurs autres mécanismes d'immunisation sont aussi actuellement explorés (Clark 2008).

Une avenue peu étudiée, mais prometteuse dans le contrôle des tiques est l'utilisation d'agents biologiques ; en introduisant ou en stimulant la présence d'une espèce ou d'un pathogène prédateur naturel de la tique, il serait possible de modérer la présence de l'araignée indésirable. Un exemple serait l'endoparasitoïde hyménoptère *Ixodiphagus hookeri*, qui pond ses œufs à l'intérieur de la tique. L'introduction de ce parasite sur le terrain n'aurait pas démontré d'efficacité significative, la persistance du parasite étant dépendante d'une haute densité de tiques (Stafford 2003). Une autre solution potentiellement plus efficace serait l'utilisation de champignons entomopathogéniques, qui peuvent être dispersés dans l'environnement ou appliqués directement sur le bétail ou les hôtes de la tique (Stafford 2003). Les résultats obtenus en laboratoire et sur le terrain seraient significatifs, autant en tuant directement les tiques qu'en diminuant leur fécondité (quantité et taille des œufs pondus par les femelles) (Hornbostel 2004). Comme ces champignons sont souvent exogènes aux milieux dans lesquels ils sont introduits, la température et taux d'humidité optimaux pour leur croissance sont souvent différents des conditions retrouvées lors du pic d'activité des tiques (Ostfeld 2006a). Bref, le contrôle biologique semble intéressant puisqu'il propose une alternative à l'utilisation d'insecticide toxique, mais l'introduction de nouveaux organismes dans un écosystème comporte évidemment des risques. Mentionnons entre autres l'atteinte d'espèces non visées et la prolifération des prédateurs naturels de l'organisme introduit (Ostfeld 2006a).

## Les isoxazolines

Les isoxazolines sont une classe d'antiparasitaire introduit sur le marché en 2015 qui inclut le fluralaner, le sarolaner, l'afoxolaner et le lotilaner. Leurs effets acaricides et insecticides en font un choix judicieux pour le traitement topique ou oral des chiens et des chats. Le fluralaner est homologué pour protéger l'animal contre les tiques (*Ixodes scapularis*, *Dermacentor reticulatus*, *Amblyomma americanum* et *Rhipicephalus sanguineus*) et les puces (*Ctenocephalides felis* et *Ctenocephalides canis*) (European Medical Agency 2014, Bravecto 2020). Le sarolaner, quant à lui, est en plus homologué contre *Ixodes hexagonus*, la gale sarcoptique (*Sarcoptes scabiei*), la gale des oreilles (*Otodectes cynotis*) et la démodécie (*Demodex canis*) (European Medical Agency 2015).

Les caractéristiques pharmacocinétiques du sarolaner en font un excellent choix pour le traitement des micromammifères sauvages; la molécule à une biodisponibilité élevée (plus de 85% chez le chien), une clairance faible (0,12ml/min/kg chez le beagle) et une accumulation préférentielle dans les graisses (European Medical Agency 2015). La principale voie d'excrétion est la voie biliaire, la molécule étant excrétée inchangée dans les fèces (European Medical Agency 2015). Lors de l'administration aux chiens, le produit est efficace pour tuer les tiques dans les 12h suivant l'administration. La tique doit toutefois piquer l'animal avant d'être tuée, ne permettant pas d'éliminer complètement le risque de transmission d'une maladie vectorielle. La notice d'homologation confirme que la tique sera tuée dans les 24h suivant son attachement. Une étude réalisée par Wengenmayer et al. a toutefois démontré une efficacité de 89,6% à tuer une tique 4h après son attachement, et ce deux jours après l'administration de la dose recommandée chez le chien (Wengenmayer 2014).

Toutes les molécules de la famille des isoxazolines ont le même mode d'action et sont toutes des dérivés de l'isoxazole, dont la composition chimique est un azole ayant un atome d'oxygène adjacent à l'azote. Cette classe de molécule agit en tant qu'antagonistes non compétitifs du site NCA-II présent sur le récepteur GABA et sur les canaux chlorure contrôlés par le glutamate. Ces récepteurs GABA et glutamate sont présents de façon très étendue dans le système nerveux central des vertébrés. Toutefois, ils sont également présents à la jonction



neuromusculaire chez les invertébrés, les rendant particulièrement sensibles au mode d'action des isoxazolines. En effet, en se liant à son site d'action, la molécule d'isoxazoline empêche la dépolarisation cellulaire nécessaire à la propagation de l'influx nerveux; la tique est alors paralysée et tuée (Gassel 2014, Zhao 2014). De plus, le site NCA-II, spécifique à la liaison des isoxazolines, est absent ou beaucoup moins sensible chez les vertébrés; cette dernière caractéristique augmente encore plus l'innocuité de cette classe de molécules (Sojka 2018). À cet effet, le CVMP (Committee for Medicinal Products for Veterinary Use) explique dans son rapport sur Bravecto (fluralaner) que la molécule, bien qu'ayant une activité élevée sur tous les récepteurs GABA présent chez les arthropodes, n'a démontré aucune activité mesurable lorsque testée sur un récepteur provenant d'un rat (European Medical Agency 2014). Faisant partie de la même classe de molécule chimique, le sarolaner et le fluralaner ont un mode d'action similaire chez les insectes exposés. Toutefois, on peut se questionner quant à l'efficacité différentielle des deux médicaments. À cet effet, une étude mise en place par Six et al. en 2016 a comparé les deux molécules chez un groupe de chien. Cependant, les médicaments ont été administrés selon leur posologie recommandée, soit une seule dose aux 3 mois de 25–50 mg/kg pour le fluralaner, et 2–4 mg/kg chaque mois pour 3 mois pour le sarolaner. Les résultats sont donc cohérents avec l'administration : le sarolaner demeura efficace pour tuer les puces rapidement pendant les 90 jours que dura l'étude. Le fluralaner étant initialement aussi efficace que le sarolaner, le nombre de puces restantes et le temps d'action augmentent aux jours 74 et 90 (Six et al. 2016). De manière similaire, une étude récente a testé l'efficacité différentielle du fluralaner et du sarolaner chez le chat. Un groupe fut traité avec 0,88–1,19 mg/kg de sarolaner et 5,29–7,12 mg/kg de selamectin reçu topiquement aux jours 0, 30 et 60. Le second groupe reçut 35,21–43,16 mg/kg de fluralaner topiquement au jour 0, tel que conseillé sur l'étiquette. Le traitement au Revolution Plus® (selamectin et sarolaner) montra une efficacité au-dessus de 99,1% tout au long de l'étude; le traitement au Bravecto® (fluralaner), quant à lui, démontra une légère baisse d'efficacité au jour 84 (de 99,3% à 90,1% d'efficacité), et ce pour les chats ayant reçu de 4 à 12% moins que la dose recommandée de 40 mg/kg (Vatta et al. 2019).

Plusieurs articles sont disponibles dans la littérature et témoignent de l'utilisation sécuritaire des isoxazolines. Une première étude effectuée par McTier et al en 2016 a testé 20 différentes molécules d'isoxazolines chez la souris *in vivo*. Aucune réaction adverse n'a été

observée pour des doses de sarolaner de 10 et de 30 mg/kg (à noter que la dose recommandée chez le chien est de 2–4 mg/kg). Un second article publié par Sojka et al. en 2018 relate l'administration simultanée, chez *Mus musculus*, de 10 mg/kg de fluralaner oralement et de manière sous-cutanée, en plus d'une dose de 100 ppm topiquement. Un deuxième traitement identique fut effectué 7 jours plus tard; toutes les routes d'administration ont été bien tolérées et les chercheurs ont noté une excellente efficacité contre *C.felis* et *Myocoptes musculinus*. Finalement, la surdose au sarolaner fut testée chez des chiens beagles, et les résultats démontrent des symptômes neurologiques (tremblements, convulsions) se résolvant sans traitement lorsqu'au minimum 3 fois la dose recommandée était administrée (European Medical Agency 2017). Ces résultats encourageants suggèrent que l'utilisation chez la souris est sécuritaire. Cependant, les petits rongeurs étant une nourriture de choix pour les oiseaux de proie, un souci de bioaccumulation de la molécule chez ces animaux pourrait exister. À cet effet, une étude a tenté l'utilisation de fluralaner comme antiparasitaire chez le poulet d'élevage, et aucun effet négatif n'a été noté chez la population d'étude pour un traitement allant jusqu'à 5 fois la dose recommandée chez le poulet, et ce pour une durée de traitement jusqu'à trois fois plus longue (soit 2,5 mg/kg administrés 6 fois sur une période de 10 jours) (Prohaczik 2017). D'ailleurs, le fluralaner fut récemment homologué comme antiparasitaire dirigé contre les mites (*Dermanyssus gallinae*, *Ornithonyssus sylviarum*) chez les poules de consommation en Europe (European Medical Agency 2019). Bien qu'encourageants, ces résultats ne permettent pas d'éliminer tout effet négatif potentiel de la distribution du médicament sous forme d'appât oral aux micromammifères sauvages.

## Conclusion

Compte tenu de l'augmentation des cas rapportés au Canada, la maladie de Lyme est une préoccupation actuelle majeure en santé publique. Plusieurs articles scientifiques ont déjà présenté les résultats de modélisations tentant de prévoir l'expansion des régions endémiques en Amérique du Nord, amplifiée par le réchauffement climatique. Connaître les variables influençant le risque de maladie de Lyme présent dans l'environnement permet de cibler les efforts de prévention et de contrôle, qui demeurent pour l'instant surtout limités à la protection

individuelle. Il devient important de trouver un protocole efficace et sécuritaire pour réduire le risque humain dans l'environnement sans nuire aux espèces non ciblées.

Le parc national des Milles-îles en Ontario constitue un terrain idéal pour la mise en place de notre protocole, étant donné la géographie du site permettant l'étude d'une diversité de territoire, autant sur la terre ferme que sur des îles, chacune ayant ses caractéristiques spécifiques de faune et de flore. Sa proximité aux États-Unis en fait un site de prévalence précoce au Canada. De plus, les données de biodiversité et de prévalence récoltées lors de l'étude de Lisa Werden nous offrent une source d'information privilégiée permettant de choisir judicieusement nos terrains d'études (Werden et al. 2014).

## Objectifs et Hypothèses

L'objectif général de cette étude vise à utiliser les isoxazolines pour traiter les micromammifères résidents d'un territoire endémique pour la maladie de Lyme et ainsi réduire la densité de tiques présente. Nous voulons aussi déterminer les caractéristiques du territoire qui permettent d'optimiser le traitement.

Les objectifs principaux de cette recherche sont:

1) Évaluer l'efficacité du traitement aux isoxazolines (fluralaner et sarolaner), lorsqu'administré sous forme d'appâts oraux, pour diminuer la charge parasitaire des micromammifères résidents d'un terrain endémique pour la maladie de Lyme.

Hypothèse : Étant donné l'effet acaricide connu des molécules isoxazolines utilisés sur une variété de mammifères, incluant le rat et la souris, nous supposons que ces molécules auront le même effet lorsque consommé par les souris de nos terrains d'étude.

Hypothèse : Étant donné que le médicament sera mélangé à du beurre d'arachide et distribué dans des appâts permettant l'entrée et la sortie des micromammifères, nous supposons que le médicament sera consommé par une proportion suffisante des micromammifères de notre terrain d'étude pour que nous puissions observer l'efficacité du traitement.

Prédiction : Le nombre de tiques présent sur les micromammifères capturés en terrain traité sera plus bas que le nombre récolté sur les micromammifères capturés en terrain contrôle.

2) Évaluer l'efficacité du traitement aux isoxazolines (fluralaner et sarolaner) pour diminuer la densité de tiques présentes en région endémique pour la maladie de Lyme.

Hypothèse : Étant donné que les larves se nourrissent sur des micromammifères et que ceux-ci seront en partie traités avec une molécule antiparasitaire, ces larves seront tuées et réduiront ainsi la prochaine cohorte de nymphes.

Prédiction : Nous prédisons donc que le nombre de nymphes récoltée par la technique de flanelle sera diminué sur un microsite après au moins un été de traitement.

3) Déterminer l'impact des facteurs environnementaux mesurés (abondance et diversité des hôtes, caractéristique environnementale, température et humidité) sur la densité de tiques et sur l'efficacité du traitement.

Hypothèse : Étant donné que *Peromyscus spp.* est l'hôte principal pour les stades immatures de la tique, nous supposons que cette espèce est principalement responsable de maintenir la densité de tiques dans les territoires où la densité de ce micromammifère est forte.

Hypothèse : Étant donné que l'ouverture des stations à appâts n'est compatible qu'au traitement des micromammifères de petite taille; nous supposons que des hôtes alternatifs non traités seront disponible pour la larve dans les territoires avec une biodiversité de micromammifères élevée.

Hypothèse : Puisque la présence de tiques et leur recherche active d'hôte a été auparavant corrélé positivement avec une litière abondante au sol, la présence de chevreuil, une température supérieure à 4°C et un taux d'humidité élevé;

Prédiction : Nous prédisons que l'effet du traitement pour réduire la densité de nymphes sera plus prononcée dans les microsites avec une plus faible biodiversité et où *Peromyscus spp.* est présent en plus grand nombre.

Prédiction : Nous prédisons que le nombre de nymphes en recherche active d'hôte sera plus élevé dans les territoires avec une litière profonde au sol, avec un plus grand nombre de chevreuil présent et lors de journée plus humide.

## Chapitre 2: Article scientifique

### **Oral administration of isoxazolines reduces tick infestation of wild *Peromyscus leucopus* mice in the Thousand Islands National Park, Ontario<sup>1</sup>**

Gabrielle Dimitri Masson, Claire Jardine, Cécile Aenishaenslin, Catherine Bouchard, Christopher Fernandez-Prada, Jérôme Pelletier, Jean-Philippe Rocheleau, Patrick A. Leighton

Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal; Groupe de recherche en épidémiologie des zoonoses et santé publique (GREZOSP); Ontario Veterinary College, University of Guelph; Thousand Islands National Park, Parks Canada

#### Author Contributions

Funding acquisition: Patrick A. Leighton

Methodology: Gabrielle Dimitri Masson, Patrick A. Leighton, Jérôme Pelletier, Catherine Bouchard, Claire Jardine, Jean-Philippe Rocheleau

Data collection : Gabrielle Dimitri Masson, Jérôme Pelletier, Claire Jardine

Data analysis: Gabrielle Dimitri Masson, Patrick A. Leighton, Catherine Bouchard, Jérôme Pelletier, Claire Jardine

Supervision: Claire Jardine, Cécile Aenishaenslin, Catherine Bouchard, Christopher Fernandez-Prada, Jérôme Pelletier, Jean-Philippe Rocheleau, Patrick A. Leighton

Writing- original draft: Gabrielle Dimitri Masson

Writing- review and editing: Patrick A. Leighton, Claire Jardine, Jérôme Pelletier

---

<sup>1</sup> In preparation for submission to *Ticks and Tick-borne Diseases*

## Abstract

Lyme disease (LD) is the most common vector-borne disease in North America and is caused by the bite of an *Ixodes spp.* tick that previously fed on an infected wildlife host. *Peromyscus leucopus* mice are one of the most effective reservoirs for *Borrelia burgdorferi*, the bacteria responsible for LD, in addition to being the preferred host for the tick's immature life stages. Previous studies have successfully treated *Peromyscus* mice with acaricidal chemicals in endemic regions, but wide use of these toxic chemicals have known detrimental effects on the environment. In this study, we used a controlled field experiment to test a new class of safer acaricidal chemicals, isoxazolines, distributed as oral baits to the *Peromyscus* reservoir. Treatment efficacy was assessed through measuring tick body burden (infestation) on small mammals and by measuring the density of questing nymphal ticks. Our results show a reduction in tick load for mice captured on treatment plots compared to control plots for 3 out of 5 sites. However, we did not observe a significant reduction in the density of questing nymphs, a better reflection of human LD risk, perhaps due to the limited duration of the study. Density of nymphs (DON) was best explained by humidity levels at the time of sampling, plot-level host biodiversity and interannual variation. Increased small mammal biodiversity was positively correlated with DON but did not interact significantly with treatment effect. By passively treating small mammals with acaricidal baits, we field-tested a targeted prevention method applicable to multiple tick-borne diseases that persists because of wild rodent reservoirs. Confirmation of treatment efficacy is needed through prolonged treatment and tick sampling, and the analysis of treatment effects on the prevalence of *Borrelia* in questing nymphs would substantiate the potential of isoxazolines to reduce human LD risk in the environment.

## Introduction

Blacklegged ticks (*Ixodes scapularis*) are the main vector for Lyme disease (LD) in Eastern North America and constitute a growing threat to public health. In Canada, the number of confirmed cases has jumped from 144 in 2009 to 1487 in 2019, although failure to seek health care and underreporting suggests that only 30% of cases might be identified in areas of LD emergence (Ogden & al. 2019). This increase is due to the northward spread and establishment of the vector and bacteria that causes Lyme disease, *Borrelia burgdorferi*, in new areas in

Canada, which is being monitored through passive and active surveillance (Ogden & al. 2009). New endemic regions (i.e., regions with established *Ixodes* population with evidence of *B. burgdoferi* infection ) for LD in Ontario have been identified, expanding from a single endemic region in Long Point in the early 1990s, to five known endemic regions as of 2020 including Kingston and parts of the Thousand Islands National Park (Health Canada 1991, Barker & al. 1992, Government of Canada 2020). The pathogen responsible for LD, *B. burgdoferi*, is transmitted to humans by the bite of a tick that has previously fed on infected wildlife hosts. Therefore, LD is associated with the presence of competent hosts in the environment that allow transmission of *Borrelia* to the uninfected tick. Several host species contribute to LD prevalence, with white-footed mice (*Peromyscus leucopus*) considered to be the most important amplification host for *Borrelia* due to their ability to carry and transmit the pathogen as well as their abundance in a wide diversity of habitats (Mather & al. 1989, LoGiudice & al. 2003, Brisson & al. 2008). Consequently, high-prevalence regions for LD have been linked with a high density of *Peromyscus* mice (Ostfeld 2001, Begon 2008, Werden & al. 2014).

Personal protection remains the most useful tool available to prevent LD in humans; however, there is interest in trying to develop methods to reduce *I. scapularis* density and infection prevalence in the environment. While many solutions to reduce the risk of tick transmitted diseases in the environment have been attempted, most have proven unsuccessful, unsafe, or impractical over large areas (Eisen & Stafford 2020). Current methods focus on the use of insecticides, treatment of hosts, or reduction of host abundance and environment alteration. The latter has been tried with some success, but litter removal and controlled fires remain challenging or destructive over large areas (Schulze 1995, Stafford 1998, Horak 2006, Gleim 2019). An alternative to the drastic method of deer population reduction (Rand 2004) is the use of host-targeted pesticide treatment. The treatment of deer with acaricidal products has shown promise in reducing the density of ticks in the environment, but the use of bait station for treatment distribution increases deer aggregation and may increase host abundance through feeding (Clark 2011, Curtis 2011, Gear 2014, Stafford 2017). In addition, distribution of insecticides in the environment might impact sensitive, non-target arthropod populations. Moreover, there is a risk that selective pressure induced by large-scale usage of chemicals will generate resistance (Curran & al. 1993, Llewellyn 1996, Schulze & al. 2005, Miller 2007).



Other control strategies have targeted the primary reservoir for *B. burgdorferi* and immature *I. scapularis* ticks, *Peromyscus leucopus*. Several studies have investigated the treatment of rodents with topical acaricidal chemicals (fipronil, permethrin) distributed through nesting material or bait stations; demonstrating the ability of such approaches to reduce the abundance of questing nymphs in the environment (Daniels 1991, Deblinger & al. 1991, Stafford 1992, Schulze & al. 2007, Eisen & Stafford 2020). However, a notable downside to the use of nonselective pesticides is their known toxicity to many vertebrates combined with their propensity to accumulate in soil and water (Stratton & Corke 1982, Hornsby & al. 1996, Raveton & al. 2007). In addition, these substances degrade slowly (half-life of up to 220 days, depending on substrate and conditions) and their degradation products can be even more toxic than the initial substance (Tingle & al. 2003, Toynton & al. 2009).

A promising alternative to conventional insecticides are isoxazolines, a novel class of acaricides highly specific to invertebrates. These chemicals block the opening of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA)-gated chloride ion channels (GABACl<sub>s</sub>) by activating a binding site that is either absent or less sensitive in vertebrates (Gassel 2014, Zhao 2014, Sojka & al. 2018). This class of chemicals entered the veterinary market in 2014 and has already shown acaricidal efficacy in small rodents, while being safe in birds, mice and dogs (McTier & al. 2016, Prohaczik 2017, European Medicine Agency 2017, Sojka & al 2018). In addition, the long half-life of isoxazolines make them a promising choice for treating wildlife where provision of frequent treatments can be a logistical challenge (European Medical Agency 2015).

In this study, we investigate the efficacy of isoxazolines administered as oral baits to reduce tick-borne disease risk in the Thousand Islands National Park, a LD endemic region in Ontario, Canada. Specifically, our objectives were to determine: 1) isoxazoline efficacy to reduce tick body burden on wild small mammals, 2) the reduction in the density of questing nymphs attributable to treatment of rodent hosts, and 3) the effect of biodiversity on treatment efficacy. By targeting the preferred host for *Ixodes* larvae, *Peromyscus spp.* mice, we expected to reduce tick infestation of these small mammals, resulting in a reduced cohort of questing nymphs in the subsequent year. We also hypothesized that increased host biodiversity would reduce treatment efficacy by providing alternative and non-treated hosts for immature ticks to feed on. By experimentally testing the efficacy of a new class of host-targeted chemicals in a

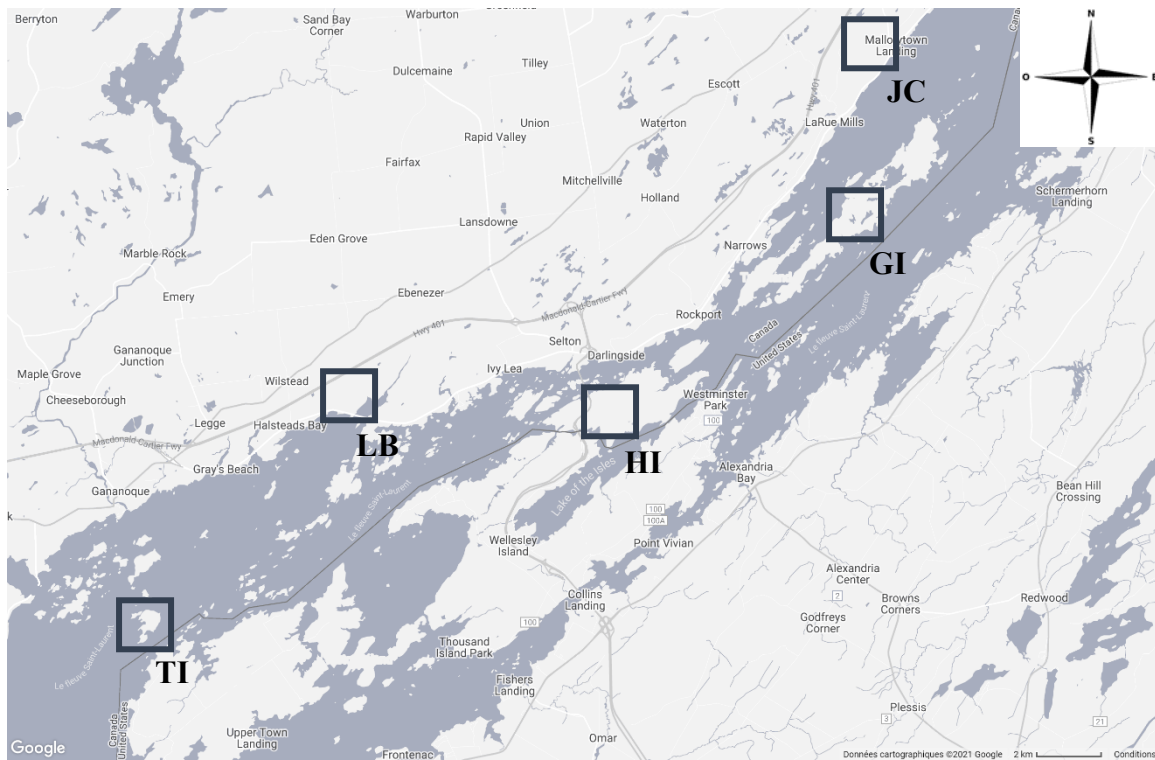
field setting, this study provides an important evaluation of a new treatment approach that could be included in an integrated approach to reduce the risk of LD.

## Methods

### Study area

Five sites, including 3 island and 2 mainland sites, in Thousand Islands National Park in Ontario (44.45320°N, 75.86085°W) were included in this study. Using data from Werden & al. (2014), sites were chosen based on: i) high presence and varying diversity of small mammal hosts, ii) high prevalence of *Borrelia burgdorferi* in ticks collected by drag sampling, and iii) sufficient area of deciduous forest habitat to accommodate at least two study plots/site. The five sites chosen were Thwartway Island, Grenadier Island, Jones Creek, Hill Island and Landon Bay (Figure 1).

Figure 1. Map representing the location of all 5 study sites in the Thousand Islands National Park



TI: Thwartway Island, GI: Grenadier Island, JC: Jones Creek, HI: Hill Island and LB: Landon Bay

Our study followed a blocked experimental design, with control and treatment plots co-located within each experimental block (site). All sites contained one control plot and one plot treated with sarolaner (Simparica<sup>TM</sup>). In addition, the three largest sites contained an additional plot treated with the isoxazoline fluralaner (Bravecto<sup>TM</sup>) (McTier & al. 2016, Merck 2020). Each plot was formed by a 10x10 square grid, each point being 15 meters apart (total grid size being 135 m X 135 m). Plots were distanced by at least 200 m, including a physical barrier when possible (water, trail, road, etc.) to avoid movement of rodents between plots. *Peromyscus spp.* home ranges are typically circular and vary in size by sex, age, season, population density and resources, with an average territory measuring approximately 0.1 ha. (Lackey & al. 1985, Stickel & al. 1968). Practicality prevented us from distancing plots even more, due to heavy equipment that had to be carried on foot between plots.

### ***Drag sampling***

We dragged each plot in May, June, July and August of 2018 and 2019 and in June and July of 2020; dragging is considered the reference method to collect ticks from the environment, as described by Salomon & al. (Salomon & al. 2020). This consisted of dragging a 1 m<sup>2</sup> white flannel cloth over the forest floor along three 125 m transects (total sampling effort of 375 meters/plot/month). Transects were placed in parallel at 45 m intervals across the plot grid, ensuring uniform sampling. We examined the flannel sheet every 25 m, collecting nymphs, adult female and adult male ticks collected in separate vials filled with 70% ethanol. Larvae were counted and removed but were not collected. Dragging took place during the day, in dry ground conditions and when temperature was above 4 degree Celsius.

### ***Small mammal treatment***

We equipped each treated plot with 100 Protecta RTU triangular-shaped mouse bait stations, one at each point of the grid (Bell Laboratories 2021). We baited stations once a week, for 9 consecutive weeks in 2018 (May 30<sup>th</sup> to July 25<sup>th</sup>) and 11 weeks in 2019 (May 27<sup>th</sup> to August 5<sup>th</sup>). We replaced lost baitboxes to maintain the 100 treatments per plot throughout the summer.

Dosage of sarolaner or fluralaner was twice the recommended dose for dogs, which is equivalent to 4–8mg/kg of sarolaner and 50–112 mg/kg of fluralaner. We doubled the dosage to account for the high metabolism of mice (Pelletier and al. 2020). We considered the average weight of mice to be 25g. We added peanut butter to the desired dose of medication to obtain a single serving of 0.18 to 0.40g per treatment. Based on the average daily food consumption of mice, we assumed that a mouse would eat the total oral bait in one sitting (Bachmanov & al. 2002). We noted and replaced unconsumed treatments every week.

### ***Small mammal trapping***

Two small mammal trapping sessions were carried out each study year, in July and August, for a total of 2-3 nights of trapping per site per year. We baited between 80 and 100 Sherman traps (live traps) per night of trapping, set at the intersection points of the 10x10 m plot grid. We baited the traps using peanut butter and oatmeal, adding a piece of apple as a water source and natural cotton or polyester fibers for insulation. We set traps after 3pm and checked them the following morning between 5 and 7am. We left the empty traps open for one day (between 6am and 2pm) per site per year to assess biodiversity of diurnal small mammals. We processed all *Peromyscus* mice according to the procedure below. Other species captured at night were either processed or released based on their health condition. We did not process animals captured during the day, simply recorded the number of individuals of each species.

Captured small mammals were first anaesthetized using an isoflurane portable vaporizer (3% for induction, 1-2% for maintenance), then processed prior to release at site of capture. The following data were recorded during processing:

- Species identification based on phenotype
- Morphometrics: total length (tip of nose to end of tail), foot (tip of finger no.3 to heel, claw excluded), tail (sacrum to last vertebrae of the tail) and ear (basal indentation to tip of the ear)
- Weight (g)
- Sex (based on the distance between anus and genital area) and reproductive status. Females were considered pregnant only if foetuses were easily palpable.

- Complete body examination for ticks. We noted the stage (larva, nymph, adult male or adult female) of each tick and collected them using tweezers.

All ticks attached to one small mammal were removed with tweezers and kept in a vial filled with 70% ethanol. Traps were cleaned between sites and after capture, with warm water, soap and Virkon 1%.

All small mammals were captured and processed in Thousand Islands National Park with the ethical approval of the institutional animal ethics committee of Université de Montréal and under a Park's Canada research permit.

### ***Environmental analysis***

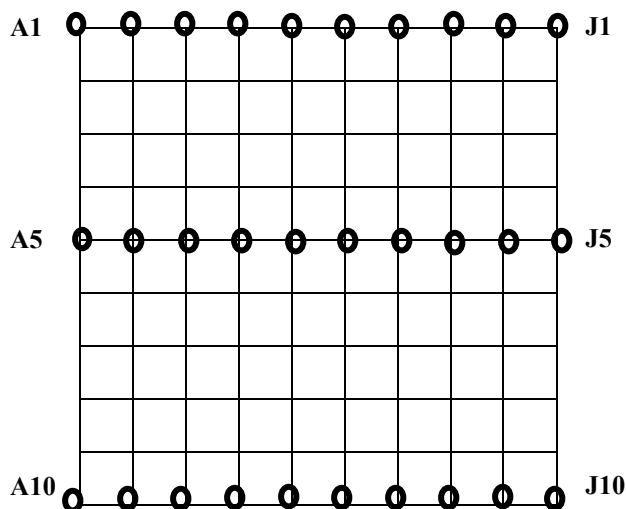
We evaluated each plot for the following environmental criteria:

- Litter depth: measured by inserting a ruler into the litter layer until ground was reached.
- Canopy cover: we estimated the percentage of opening (light) in canopy by observation from survey spot (visual estimation).
- Deer abundance: we counted pellets of deer feces within a circular survey spot with a 1.7-metre radius (9.29 m<sup>2</sup> / 100 square feet) (adapted from Neff 1968).

We assessed all three criteria at 30 different spots within each plot following a regular grid and calculated an average value for each plot to use in the statistical analysis (see figure 2).

We measured temperature and humidity at 12:00 on the day of drag sampling using data recorded from the weather station on Grenadier Island, Ontario (Government of Canada 2020).

Figure 2. Schematic representation of the 30 different survey spots (circles) for litter depth canopy cover and deer abundance evaluation within one plot (10x10 square grid)



### *Statistical analysis*

We used generalized linear mixed-effects models with a negative binomial distribution to assess the effect of isoxazoline treatment and environmental variables on tick infestation in mice (Table 1) and density of nymphal ticks in the environment. The full set of predictors considered for density of nymphs and tick infestation are listed in Table 1 and Table 2, respectively.

Best fitting models were chosen by comparing Aikake information criterion (AIC) and confirmed using the Vuong test (comparison of the predicted probabilities for both models). Univariate analysis was conducted using negative binomial regression and only significant variables (p-value above 0.2) were included in model selection. Collinearity was verified using correlation coefficients and one variable was consequently removed from each of the models.

Conversion rate from larvae cohort to nymph cohort was calculated using a simple ratio:

$$\frac{\text{Number of nymphs collected on the plot at year } 0 + 1}{\text{Number of larvae collected on the plot at year } 0}$$

Table 1. Explanatory variables tested in univariate statistical analysis for the number of questing nymphs during a plot drag

<b>Variable</b>	<b>Description</b>
<b>Litter depth</b>	Average depth of litter on the plot from all 30 survey spots
<b>Canopy cover</b>	Average percent canopy cover on the plot from all 30 survey spots
<b>Deer feces</b>	Total number of deer feces on the plot from all 30 survey spots
<b>Index of abundance</b>	Average number of small mammals caught per 100 trap/nights for both 2018 and 2019 trapping sessions combined
<b>Host biodiversity</b>	Number of different species caught on the plot for both 2018 and 2019 trapping session
<b>Temperature</b>	Average temperature at noon the day of the drag
<b>Humidity</b>	Average humidity at noon the day of the drag
<b>Treatment</b>	Type of treatment used on the plot (sarolaner, fluralaner or control)
<b>Year</b>	Year of the drag (2018, 2019 or 2020)
<b>Month</b>	Month of the drag (May, June, July or August)
<b>Site</b>	Site on which the drag took place (Thwartway, Grenadier, Jones Creek, Landon Bay or Hill Island)
<b>Plot</b>	Plot on which the drag took place (ex: Thwartway control plot, Thwartway sarolaner plot, etc.)

Table 2. Explanatory variables tested in univariate statistical analysis for the total number of ticks feeding on *Peromyscus spp.* mice

<b>Variable</b>	<b>Description</b>
<b>Density of questing larvae</b>	Total number of questing larvae found during the drag closest to the trapping session (on the same plot)
<b>Length</b>	Total length of the mice, from the tip of nose to end of tail (in cm)
<b>Weight</b>	Weight of the mice (in g)
<b>Sex</b>	Sex of the mice (male, female or pregnant female)
<b>Treatment</b>	Type of treatment used on the plot (sarolaner, fluralaner or control)
<b>Year</b>	Year of the mice trapping (2018 or 2019)
<b>Month</b>	Month of the mice trapping (July or August)
<b>Site</b>	Site on which the trapping took place (Thwartway, Grenadier, Jones Creek, Landon Bay or Hill Island)
<b>Plot</b>	Plot on which the trapping took place (ex: Thwartway control plot, Thwartway sarolaner plot, etc.)

We tested both site and plot as random effects and analyzed deviance tables obtained by ANOVA and AIC to select the most appropriate random effects structure (as described in Zuur & al. 2009). The best fixed effect structure was then selected using backwards stepwise elimination based on AIC and following the Incremental Reduction Optimization Procedure (DROP) filters (Wilson & Martinez, 2000). We conducted all analysis using RStudio 4.0.3 using packages MASS, lme4 and lmer (R core team 2013, Venables & Ripley 2002, Bates & al. 2015, Zeileis & Hothorn 2002).



## **Results**

### ***Dragging***

Complete dragging results are presented in table 3. We collected a total of 231 adult, 2102 nymphal, and 12 284 larval ticks at all our sites. Heavy rain prevented us from completing the drag at Hill Island in May 2019 and at Hill Island and Grenadier Island in July 2020. All stages were found on all plots.

Adult activity peaked in May of 2018 and June 2019. Although we didn't detect a peak in activity for nymphs in 2018, we detected heavy nymphal activity in June and July 2019 (with 46.8% of our nymphs collected during that period). Larval activity was highest in August of 2018 and 2019.

Table 3. Total number of ticks collected for all 12 sites and 3 years of research in the Thousand Island National Park, presented by stages, year, month and plot

Month.Year	Stade	GC	GS	LC	LS	TC	TS	JC	JS	JF	HC	HS	HF	Total per month
<b>May.2018</b>	Adult	0	3	3	11	5	4	15	3	12	6	5	8	75
	Nymph	5	3	8	5	1	26	25	4	4	16	25	39	161
	Larvae	2	13	124	159	2	3	42	4	8	24	54	108	543
<b>June.2018</b>	Adult	0	2	1	1	1	0	10	5	4	2	2	4	32
	Nymph	5	16	7	14	6	7	8	0	5	10	9	22	109
	Larvae	8	14	10	72	15	38	44	2	0	31	36	87	357
<b>July.2018</b>	Adult	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Nymph	3	6	5	21	1	16	6	0	2	11	3	27	101
	Larvae	0	6	7	7	0	4	1	0	2	2	12	64	105
<b>August.2018</b>	Adult	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
	Nymph	2	7	4	8	3	5	13	2	16	9	23	22	114
	Larvae	232	1400	215	388	539	649	82	29	84	80	755	776	5229
<b>May.2019</b>	Adult	0	0	0	0	0	0	5	4	3	NA	NA	NA	12
	Nymph	16	16	60	54	23	39	14	20	10				252
	Larvae	3	21	24	125	5	9	0	5	2				194
<b>June.2019</b>	Adult	2	6	8	4	8	4	3	3	0	6	5	8	57
	Nymph	21	28	72	62	25	39	44	35	20	44	33	90	513
	Larvae	2	38	152	48	10	22	11	174	21	37	40	586	1141
<b>July.2019</b>	Adult	0	2	0	1	2	0	4	3	1	3	3	4	23
	Nymph	26	32	85	84	21	33	34	12	16	16	14	98	471
	Larvae	7	15	15	60	11	12	1	5	5	24	2	241	398
<b>August.2019</b>	Adult	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	2	5
	Nymph	4	15	56	51	3	12	15	6	17	8	16	43	246
	Larvae	522	412	35	554	141	180	31	75	248	6	274	409	2887
<b>June.2020</b>	Adult	0	2	1	3	3	1	6	0	2	6	1	1	26
	Nymph	3	8	3	15	13	5	5	4	9	7	2	5	79
	Larvae	11	36	27	35	8	47	14	16	45	38	17	43	337
<b>July.2020</b>	Adult	NA	NA	0	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	0
	Nymph			7	8	10	10	6	5	10				56
	Larvae			224	115	96	113	26	210	309				1093
<b>Total per plot</b>	Adult	2	15	13	20	20	10	43	18	23	24	16	27	231
	Nymph	85	131	307	322	106	192	170	88	109	121	125	346	2102
	Larvae	787	1955	833	1563	827	1077	252	520	724	242	1190	2314	12284

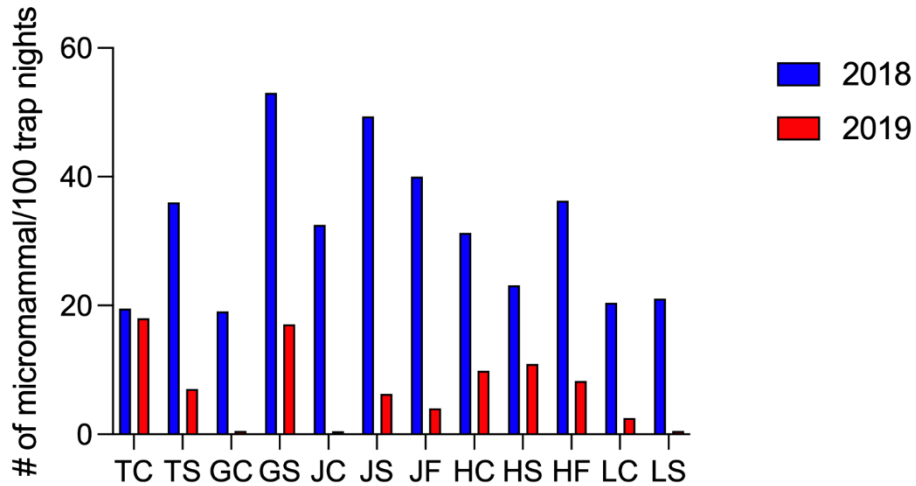
Numbers indicate the numbers of each stage of the tick at the site.

GC - Grenadier Island (control plot), GS - Grenadier Island (sarolaner plot), LC - Landon Bay (control plot), LS - Landon Bay (sarolaner plot), TC - Thwartway Island (control plot), TS - Thwartway Island (sarolaner plot), JC - Jones Creek (control plot), JS - Jones Creek (sarolaner plot), JF - Jones Creek (fluralaner plot), HC - Hill Island (control plot), HS - Hill Island (sarolaner plot), HF - Hill Island (fluralaner plot)

## Trapping

Number of small mammals caught varied greatly between 2018 and 2019 at all sites except Thwartway Island (Figure 3).

Figure 3. Number of small mammals caught per 100 trap/nights for each plot in 2018 and 2019 trapping session



GC - Grenadier Island (control plot), GS - Grenadier Island (sarolaner plot), LC - Landon Bay (control plot), LS - Landon Bay (sarolaner plot), TC - Thwartway Island (control plot), TS - Thwartway Island (sarolaner plot), JC - Jones Creek (control plot), JS - Jones Creek (sarolaner plot), JF - Jones Creek (fluralaner plot), HC - Hill Island (control plot), HS - Hill Island (sarolaner plot), HF - Hill Island (fluralaner plot)

The low index of abundance in 2019 (red) can be compared with the trapping session of 2018 (blue). The lower density of small mammals in 2019 appears shared between all study sites, except for the Thwartway control plot.

Table 4. Number of small mammals captured per species at each study plot in 2018 and 2019.

Species	Year	GC	GS	LC	LS	TC	TS	JC	JS	JF	HC	HS	HF
<i>Peromyscus spp.</i>	2018	35	53	45	56	39	54	48	78	63	60	35	55
	2019	1	28	4		36	14	1	10	10	28	13	24
<i>Scalopus</i>	2018				2			1					
	2019												
<i>Blarina</i>	2018	2		1	1				1	1	1	1	3
	2019		1						5			7	
<i>Tamias</i>	2018			7				8	2		5	3	1
	2019									1	1		
<i>Glaucomys</i>	2018			1								1	

	2019			1	1								
<i>Tamiasciurus</i>	2018			2	1								
	2019												
<b><i>Total species number</i></b>		2	2	5	5	1	1	3	3	3	3	4	3

The total number of different species caught on each plot was used as an explanatory variable for the number of questing nymphs in the environment. Plots varied in biodiversity from 1 (Thwartway control and sarolaner plot) to 5 (Landon Bay control and sarolaner plot) different species caught. Reduction in *Peromyscus* density between 2018 and 2019 was not significantly different between control and treated plots (p-value = 0.25)

***Treatment effects***

*Effect of treatment on tick infestation of rodents*

Only 0.3% of all baits were not consumed in 2018, compared to 5.9% in 2019, probably due to the apparent decrease in mice population during that year.

Many mice had 0 or few ticks on them while a smaller proportion of individuals carried most of the tick load (figure 4), a frequent phenomenon in many ectoparasites. Our results show that reduction in tick load in those heavily infested individuals is responsible for the reduction of average infestation in the treated mice population.

*Peromyscus spp.* infestation (average number of ticks per mouse) was significantly lower for the treated plot when compared to the control plot (p <0.01) for 3 of the 5 sites: Grenadier Island, Thwartway Island and Landon Bay (figure 5). Two of those 3 sites had heavy infestation of control mice during capture, which emphasized treatment’s effect. Infestation was correlated with month and year of mouse capture, sex and length of the mouse, treatment on the plot and a high density of questing larvae in the environment (Table 6).

Figure 4. Proportion of mice with a precise number of tick for all control (C) sites, sarolaner (S) treated sites and fluralaner (F) treated sites, for both 2018 and 2019 trapping sessions combined

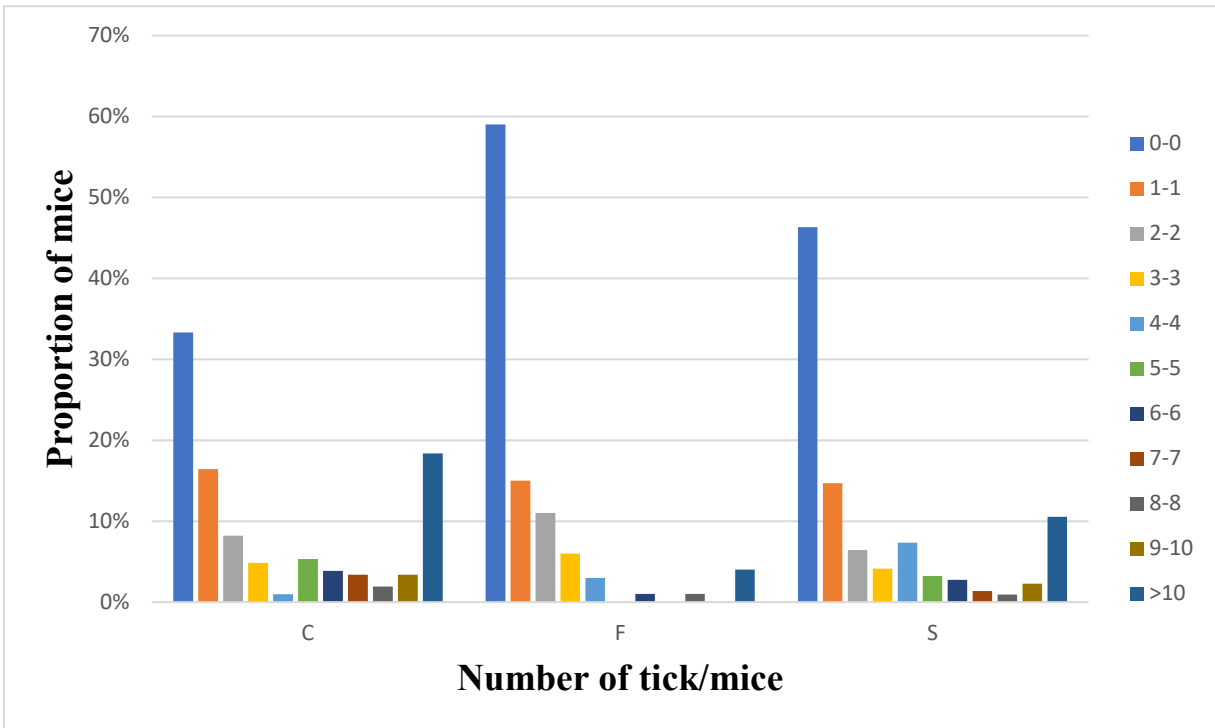


Figure 5. Average number of ticks found on mice per plot for both 2018 and 2019 trapping sessions

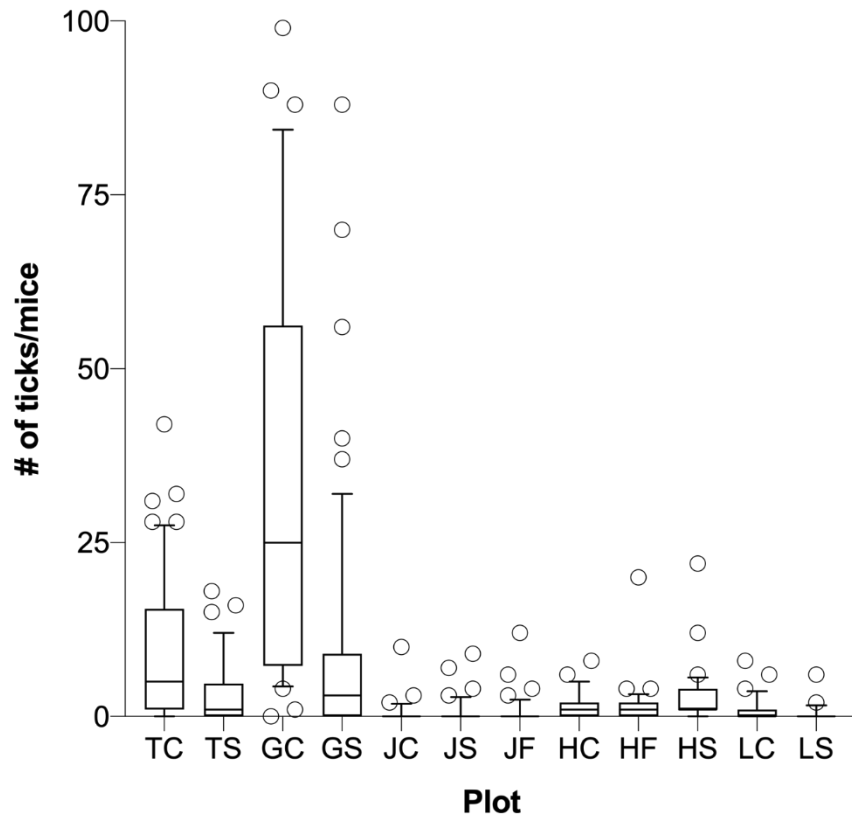


Table 5. Model terms, AIC and R<sup>2</sup> for generalized linear mixed models explaining the total number of ticks feeding on *Peromyscus spp.*

Model terms: total= total number of ticks feeding on each *Peromyscus spp.*, treatment=

<b>Model rank</b>	<b>Model terms</b>	<b>AICc</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
1	total ~ treatment * year + month + sex + length + log(larvae+1)	1790.7	0.17
2	total ~ treatment* log(larvae+1) + year + month + sex + length	1794.9	0.14
3	total ~ treatment + year + month + sex + length + log(larvae+1)	1796.3	0.15

sarolaner, fluralaner or control depending on the plot, sex= female, gestating female or male of *Peromyscus spp.* length = total length from nose tip to end of tail of *Peromyscus spp.*, larva= number of larva caught on the plot during the drag closest to the trapping day

Table 6. Parameter estimates, standard error and P-value for the highest ranked model explaining the total number of ticks feeding on *Peromyscus spp.*

<b>Model term</b>	<b>Estimate</b>	<b>Standard error</b>	<b>P-value</b>
Treatment : Fluralaner	-2.25	0.58	<0.001
Treatment : Sarolaner	-1.27	0.43	0.003
Reference : Control			

Year : 2019	0.17	0.25	0.48
Reference : 2018			
Month : August	1.11	0.23	<0.001
Reference : July			
Sex : pregnant female	-0.03	0.26	0.92
Sex : male	0.57	0.14	<0.001
Reference: female			
Length (cm)	0.05	0.07	0.50
Larvae (log)	1.24	0.20	<0.001
Fluralaner :Year2019	1.36	0.44	0.002
Sarolaner :Year2019	0.46	0.34	0.18

*Effects of treatment on questing nymphs*

The density of questing nymphs (DON) was best explained by a combination of humidity, host biodiversity, and interannual variation, with inter-plot variation included as a random effect (Table 6). Isoxazoline treatment did not result in a significant decrease in DON (Table 7). DON was higher in plots with high biodiversity, on days with high humidity during sampling, and was higher across all sites in 2019 compared to 2018 (Table 7).

Conversion rate (table 9) compares the density of nymphs on a plot to the density of larvae on the same plot the year prior. For the three sites that showed significant reduction in tick infestation between treated and control mice, conversion rate was lower in treated plots for Grenadier and Landon Bay in year 1 and Thwartway and Landon Bay in year 2. Thwartway's sarolaner plot had a higher conversion rate in year 1 while dragging data for Grenadier was



missing to calculate a conversion rate in year 2. For year 2, calculated conversion rate was lower for treated plots compared to control plot, in all sites.

Table 7. Model terms, AIC and R<sup>2</sup> for generalized mixed models explaining the number of questing nymphs

<b>Model rank</b>	<b>Model terms</b>	<b>AICc</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
1	nymphs ~ humidity + species + treatment + year + 1 plot	810.7	0.42
2	nymphs ~ humidity + treatment + year + 1 plot	811.3	0.39
3	nymphs ~ litter + humidity + species + treatment + year + 1 plot	812.5	0.44

Model terms : nymphs= total number of nymphs dragged on the plot for one drag (one month), humidity=average humidity at noon the day of the drag, species = number of different species caught on the plot for both 2018 and 2019 trapping session, treatment= sarolaner, fluralaner or control depending on the plot, litter= average depth of litter on the plot

Table 8. Parameter estimates, standard error and P-value for the highest ranked model explaining the number of questing nymphs

<b>Model term</b>	<b>Estimate</b>	<b>Standard error</b>	<b>P-value</b>
Humidity	0.14	0.06	0.02

Species	0.22	0.14	0.11
Treatment : fluralaner	-0.22	0.32	0.49
Treatment : sarolaner	-0.13	0.24	0.59
Reference : control			
Year : 2019	1.21	0.19	<0.001
Year : 2020	-0.19	0.23	0.41
Reference : 2018			

Table 9. Conversion rate from larvae to nymphs (%) estimated from ticks dragged on plots to evaluate the effect of treatment

	TC	TS	GC	GS	JC	JS	JF	LC	LS
<b>larvae 2018</b>	556	694	242	1433	169	35	94	356	626
<b>nymphs 2019</b>	72	123	67	91	107	73	63	273	251
conversion rate year 1	<b>0.13</b>	<b>0.18</b>	<b>0.28</b>	<b>0.06</b>	<b>0.63</b>	<b>2.09</b>	<b>0.67</b>	<b>0.77</b>	<b>0.40</b>
<b>larvae 2019</b>	167	223	NA	NA	43	259	276	226	787
<b>nymphs 2020</b>	23	15	NA	NA	11	9	19	10	23
conversion rate year 2	<b>0.14</b>	<b>0.07</b>	<b>NA</b>	<b>NA</b>	<b>0.26</b>	<b>0.04</b>	<b>0.07</b>	<b>0.04</b>	<b>0.03</b>

### *Environmental analysis*

Results of litter depth, canopy cover and deer feces observation are presented as supplemental material. All three parameters were positively correlated with a higher density of nymphs during univariate analyses, but none of these explanatory variables were kept in our best fitting mixed model.

## Discussion

In this study, we demonstrated that treating wild rodents with oral baits containing isoxazolines can significantly decrease tick infestation (number of ticks per rodent). Questing larva density was positively correlated with mouse infestation, and treatment efficacy was clearer on plots with high density of questing nymphs. Treatment did not significantly reduce the number of questing nymphs.

### *Impact of humidity and biodiversity on questing nymphs*

Number of questing nymphs was positively correlated with high humidity level and high biodiversity (number of species). Impact of humidity is expected, since ticks are subject to desiccation (Stafford 1994, Rodgers & al. 2007, Berge & al. 2014). In high temperature and low humidity, ticks alter their questing behavior by seeking hosts lower in the vegetation and closer to the humid litter needed for rehydration, therefore lowering their chances of attaching to bigger hosts (Lefcort & Durden 1996, Schulze & al. 2001, Prusinski & al. 2006). Since this change decreases chance of being picked up by the drag, other studies have reported lower questing nymph densities in dry weather (Vail & Smith 1998, Burtis 2016). Ticks' requirement of a humid environment could also explain the contrast between nymphal activity in 2018 and 2019, specifically the absence of a strong activity peak in 2018 (Figure 1). Average humidity levels recorded on the day of the drags support this hypothesis, with only 53% and 51% in June and July 2018 compared to 60% and 72% in June and July 2019 (Timeanddate 2021). In addition, high precipitation was recorded in the nearby weather station of Lansdowne in May and June 2019 (217 mm, compared to only 116 mm for the same two months in 2018), which dampened the litter enough to prevent us from dragging one site in May 2019 (Agricorp 2021).

The effect of small mammal biodiversity on tick density is less clearly understood. Impact of biodiversity on *Borrelia* prevalence in questing ticks has been well studied, although conflicting results have emerged. One theory, the 'dilution hypothesis', suggests that higher diversity in small mammal population leads to lower *B. burgdorferi* prevalence in ticks. High prevalence of *B. burgdorferi* in ticks has often been correlated with high density of *Peromyscus* in the community (Schmidt & Ostfeld 2001, Keesing & al. 2006, Ogden & Tsao 2009, Ruyts & al. 2016). On the other hand, environments rich in small mammal biodiversity

have mostly been correlated with a lower density of white-footed mice, due to predation and/or competition (Schmidt & Ostfeld, 2001). The dilution hypothesis predicts that high biodiversity will lead to lower human LD risk, due to more ticks feeding on less competent hosts resulting in fewer infected nymphs (Donahue & al. 1987, Ogden & Tsao 2009, Khalil & al. 2016). Unfortunately, our study did not include *Borrelia* testing and can't assess the effect of biodiversity or treatment on the prevalence of *B. burgdorferi* in ticks. However, human risk for LD is contingent on an infected tick's bite, a probability which also depends on the density of ticks (Kurtenbach & al. 2006, Pepin & al. 2012, Vourc'h & al. 2016). Combining both predictors of the density of nymphs (DON) and *B. burgdorferi* prevalence in nymphal ticks, the density of infected nymphs (DIN) has been proposed as the best predictor of LD risk (Ostfeld & Keesing 2000, LoGiudice 2003). Interestingly, one study conducted in 2009 and 2010 on the same sites as the present study found that the DIN was considerably more influenced by factors affecting the density of nymphs than the prevalence (Werden & al. 2014).

Regarding the impact of biodiversity on the DON, our results show that a higher number of small mammal species is positively correlated with a higher number of nymphs. A possible explanation for this observation could be that higher biodiversity leads to higher small mammal density, therefore more hosts available to ticks (Ostfeld & al. 1996, Krawczyk & al. 2020). However, the index of abundance was not retained as an explanatory variable in the final model and no correlation was found between number of rodents captured and biodiversity. These results contrast with similar studies, which found higher species richness to be correlated with lower nymphal abundance (Bouchard & al. 2013, Werden & al. 2014). The impact of small mammal population composition on DON are complex, where relative and absolute abundance of mice as well as the host quality of other species present seems to influence the impact of biodiversity on tick populations (LoGiudice & al. 2003, Brisson & al. 2008, Giardina & al. 2000, Ostfeld 2011).

### ***Effect of treatment on tick infestation of rodents***

Treatment seemed to be highly effective in reducing the number of ticks on mice. When looking at individual sites, treatment effect was more pronounced on sites with high density of questing ticks, where control mice had higher number of ticks/individual host (see Figure 3). In

that regard, density of questing larvae in the environment at the time of trapping (as best estimated by larva count during the closest drag) was positively correlated with tick load on mice. It is therefore possible that the effect of treatment was more visible when trapping coincided with peak larval activity, which does not mean it was less effective on other sites. Mice being one of the preferred hosts for immature tick stages, and usually carrying a heavier tick load than other small mammals (Bouchard & al. 2011, Bouchard & al. 2013), it seems more plausible that we missed the peak infestation period during capture on certain sites rather than mice being less infested on those sites. Density of ticks in the environment did vary between plots, but not sufficiently to explain the variation in average infestation. For example, the fluralaner plot of Hill Island had one of the densest tick populations as estimated by dragging, but average infestation rates were still low (1.5 tick/mice) at time of trapping compared to Grenadier and Thwartway sites.

Our results suggest that fluralaner may be somewhat more efficient than sarolaner to decrease tick infestation in wild rodents (see Table 8). Although both molecules have the same mode of action, fluralaner is homologated to be effective for a longer period (3 months) than sarolaner (1 month) in cats and dogs (European Medicines Agency 2014 & 2015). Studies comparing the efficacy of both molecules in cats and dogs have shown a slight decrease in efficacy for fluralaner towards the end of the expected coverage period, while sarolaner given every month procured a complete protection for the duration of the study (Six & al. 2016, Vatta & al. 2019). Other variables that explained the total number of ticks on *Peromyscus spp.* were the month, sex of the mouse and the local density of questing larvae. Male mice have a relatively heavier tick load than females, which is the case for ectoparasites in general (Morand & al. 2006, Devevey & Brisson 2012).

Isoxazolines have been proven to be safe for a wide variety of vertebrate, including birds, rats and mice (McTier & al 2016, Prohaczik 2017, Sojka & al. 2018). However, these molecules have not been used to treat wildlife in a setting where dosage can't be precisely controlled. Although the density of small mammals decreased substantially between our two years of trapping, the control and treatment plots both decreased similar, and this decrease can therefore not be attributed to treatment toxicity. In addition, the peanut butter baits did not appear to lead to an increase in the number of rodents, which could have ultimately had the opposite effect

than desired on the tick population. *Peromyscus* populations have been shown to fluctuate naturally between years, due to a variety of ecological factors including temperature, abundance of food, density of predators and self-regulation (Elias & al. 2004). The record-setting cold wave of January 2019 may have impacted the rodent population, as colder temperatures increase energy expenditures and winter mortality in mice (Wolff 1996, Arguez 2019). On the other hand, the apparent high density of small mammals in 2018 could be due to favorable conditions affecting all of the Thousand Islands and might have contributed to the high nymphal density witnessed in 2019. These fluctuations in rodent populations, are expected to impact larval survival by altering the proportion of larvae that successfully find a host and modifying the abundance of questing nymphs the following year (Ostfelt 2006, Estrada-Peña 2014).

### ***Impact of treatment on questing nymphs***

We found no significant impact of treatment on the density of questing nymphs in the environment. It is possible that the clear effect of isoxazolines on rodents did not result in an observable population-level decrease in questing nymphs in the environment due to the short duration of our study. The tick life cycle requires a minimum of 2 years to complete (Kocan & al. 2015), meaning that only a few cohorts of nymphs could have been affected by the treatment, which were in fact the ones feeding on rodents as larvae the year prior to sampling. By killing a proportion of feeding larvae and nymphs, we expected fewer larvae to molt into nymphs and quest for a host the following year, but also fewer nymphs to molt into adults to lay eggs that will turn into larvae. In that sense, the effect of the treatment in the environment would be cumulative, with substantial population-level impacts only expected after multiple tick life cycles.

We also examined the conversion rate between the larva cohort and the following nymph cohort (Table 9). Conversion rate compares the density of larvae at year 0 to the density of nymphs at year 0+1 on the same plot, taking into the account the relative density of ticks on the plot. In contrast, the total number of questing nymphs used as our dependent variable could be higher or lower due to unmeasured factors, like the time since tick population establishment on the plot. A reduction in conversion rate between control and treatment plot could indicate sufficient larvae mortality from treatment to reduce nymphal density. In nature, multiple factors,

including failure to find a host, overwintering and habitat characteristics, affect larval survival and successful molting, leading to a reduction in the number of nymphs in a cohort (Lindsay & al. 1998). Reduction in the conversion rate between the treated and untreated plot could be attributable to our treatment but is also expected to vary based on multiple unmeasured factors. If we assume that drag sampling is representative of the environment and that variables affecting the conversion rate are homogeneous within a site, conversion rate could be a more sensitive variable to detect the treatment effect on questing ticks in the environment.

### ***Impact of environmental factors***

Canopy cover and litter depth have both been established as important determinants in predicting tick density, as ticks use litter cover to protect them from desiccation (Werden & al. 2014, Ferrell & Brinkerhoff 2018, Talbot & al. 2019). Deer abundance has been positively correlated with tick density in previous studies (Werden & al. 2014, Kilpatrick & al. 2014). Deer abundance on our plots was estimated using a variation of the method described by Neff (1968), where pellets were only counted once, and total pellet number was directly used in our statistical analysis. Our method may have lacked sensitivity to evaluate deer abundance given that most survey plots had no deer feces, although deer presence was visually obvious to our team through many encounters.

## **Conclusion**

This study was one of the first to use isoxazolines in wild mammals. While treatment was clearly effective at reducing tick loads on mice in treated plots, this did not translate to a reduced density of questing nymphs in the environment over the timeframe of our study. Future research should consider the multi-year cycle of *Ixodes* and consider study designs that allow the investigation population-level effects of treatment over at least two *Ixodes* life cycle (4-5 years). Tick analysis for *Borrelia* is also a key part in evaluating protocols applied to white-footed mice, as lowering the density of infected nymphs (DIN) is the best determinant of a successful intervention. Intervention focusing on the main reservoir for LD agent, *P.leucopus*, are a promising way to reduce risk associated with several tick-borne disease emerging in North America, including LD, anaplasmosis, babesiosis and Powassan virus (Government of Canada, 2021). While breaking the chain of tick-borne disease transmission in the environment is a

promising avenue, integrated tick management focusing on implementing multiple control strategies may ultimately provide the best long-term approach to reducing human exposure to tick-borne diseases (Stafford & al. 2017).



## Supplemental Material

Table 10. Environmental analysis data for all 12 plots in the Thousand Island National Park

<b>Plot</b>	<b>Litter depth (cm)</b>	<b>Canopy cover (% opening)</b>	<b>Number of deer feces</b>
<b>GC</b>	1.33	14.64	0
<b>GS</b>	2.18	9.61	0
<b>HC</b>	2.27	18.00	2
<b>HF</b>	2.73	20.33	5
<b>HS</b>	2.31	22.73	0
<b>JC</b>	2.16	28.46	0
<b>JF</b>	1.21	20.63	0
<b>JS</b>	2.33	24.58	2
<b>LC</b>	3.08	13.10	6
<b>LS</b>	1.93	25.97	0
<b>TC</b>	2.65	19.00	0
<b>TS</b>	1.77	12.08	0

## References

Agricorp. (2021). *Monthly Rainfall Data*. <https://www.agricorp.com//en-ca/Programs/ProductionInsurance/ForageRainfall/Pages/RainfallData.aspx>

Arguez A. (2019). *Bitterly cold extremes on a warming planet: Putting the Midwest's late January record cold in perspective*. Climate.gov. <https://www.climate.gov/news-features/blogs/beyond-data/bitterly-cold-extremes-warming-planet-putting-midwest%E2%80%99s-late-january>

Barker IK., Surgeoner GA., Artsob H., McEwen SA., Elliott LA., Campbell GD., Robinson JT. (1992). Distribution of the Lyme disease vector, *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) and isolation of *Borrelia burgdorferi* in Ontario, Canada. *Journal of Medical Entomology*. 29(6):1011-22. doi: 10.1093/jmedent/29.6.1011.

Bates D., Maechler M., Bolker B., Walker S. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1-48. doi:10.18637/jss.v067.i01.

Begon M. (2008). *Infectious Disease Ecology: Effects of Ecosystems on Disease and of Disease on Ecosystems* (eds Ostfeld, R., Keesing, F. & Eviner, V.), *Princeton University Press*, p.12–29

Bell Laboratories, Inc. (2021). *Protecta RTU*, <https://www.belllabs.com/bell-labs/product/us/pest-control/protecta-rtu>

Berger KA., Ginsberg HS., Dugas KD. (2014). Adverse moisture events predict seasonal abundance of Lyme disease vector ticks (*Ixodes scapularis*). *Parasites Vectors*, 7, 181 (2014). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-181>

Bouchard C., Beauchamp G., Lindsay LR., Trudel L., Nguon S., Milord F., Bélanger D., Ogden NH. (2011). Associations between *Ixodes scapularis* ticks and small mammal hosts in a newly endemic zone in southeastern Canada: implications for *Borrelia burgdorferi* transmission. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 2(4):183–190. doi: 10.1016/j.ttbdis.2011.03.005.

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

Brisson D., Dykhuizen DE., Ostfeld RS. (2007). Conspicuous impacts of inconspicuous hosts on the Lyme disease epidemic. *Proceedings. Biological sciences*, 275(1631), 227–235. <https://doi.org/10.1098/rspb.2007.1208>

Burtis J.C., Sullivan P., Levi T., Oggenfuss K. and al. (2016). The impact of temperature and precipitation on blacklegged tick activity and Lyme disease incidence in endemic and emerging regions. *Parasites and Vectors*, 9, 606, doi : <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1894-6>

Bravecto. (2021). <https://www.bravecto.ca/fr>

Brisson D., Dykhuizen DE., Ostfeld RS. (2008). Conspicuous impacts of inconspicuous hosts on the Lyme disease epidemic. *Proceedings of Biological Sciences*, 275: 227–235.

Brownstein J. S., Holford T. R., Fish D. (2005). Effect of Climate Change on Lyme Disease Risk in North America. *EcoHealth*, 2(1), 38–46. <https://doi.org/10.1007/s10393-004-0139-xog>

CanLyme: foundation Canadienne de la maladie de Lyme. (2021). *Les co-infections particulières*. <https://canlyme.com/fr/le-diagnostic-de-la-maladie-de-lyme/les-co-infections/les-co-infections-particulieres/>

Casher L., Lane R., Barrett R., Eisen L. (2002). Relative importance of lizards and mammals as hosts for ixodid ticks in northern California. *Experimental and Applied Acarology*, 26:127–143

Clark R. P., Hu L. T. (2008). Prevention of lyme disease and other tick-borne infections. *Infectious disease clinics of North America*, 22(3), 381–vii. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2008.03.007>

Consensus conference on Lyme disease. (1991). *The Canadian journal of infectious diseases*, 2(2), 49–54.

Curran KL, Fish D, Piesman J. (1993). Reduction of nymphal *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) in a residential suburban landscape by area application of insecticides. *Journal of Medical Entomology*, 30(1):107-113. doi:10.1093/jmedent/30.1.107

Curtis P. D., Walker S. M., Gilrein D. O. (2011). Shelter Island and Fire Island 4-poster deer and tick study: final report, Cornell University & Cornell Cooperative Extension, Ithaca, NY, p. 113.

CVMP assessment report for Bravecto (EMEA/V/C002526/0000). (2014). *European Medicines Agency*. [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_-\\_Public\\_assessment\\_report/veterinary/002526/WC500163860.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Public_assessment_report/veterinary/002526/WC500163860.pdf)

Daniels TJ., Fish D., Falco RC. (1991). Evaluation of host-targeted acaricide for reducing risk of Lyme disease in southern New York state. *Journal of Medical Entomology*, 28(4):537–43.

Deblinger RD., Rimmer DW. (1991). Efficacy of permethrin-based acaricide to reduce the abundance of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, 28(5), 708-711

Devevey G., Brisson D. (2012). The effect of spatial heterogeneity on the aggregation of ticks on white-footed mice. *Parasitology*, 139(7), 915–925., doi :10.1017/S003118201200008X

Donahue JG., Piesman J., Spielman A. (1987). Reservoir competence of white-footed mice for Lyme disease spirochetes. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.*, 36(1):92-6. doi: 10.4269/ajtmh.1987.36.92

Eisen L., Eisen RJ. (2016). Critical Evaluation of the Linkage Between Tick-Based Risk Measures and the Occurrence of Lyme Disease Cases. *Journal of Medical Entomology*, 53(5):1050-1062. doi: 10.1093/jme/tjw092

Eisen RJ., Kugeler KJ., Eisen L., Beard CB., Paddock CD. (2017). Tick-borne zoonoses in the United States: Persistent and emerging threats to human health. *Institute for Laboratory Animal Journal*, 58, doi: 10.1093/ilar/ilx005.

Eisen L., Stafford K.C III. (2020). Barriers to Effective Tick Management and Tick-Bite Prevention in the United States (Acari: Ixodidae), *Journal of Medical Entomology*, tjaa079, <https://doi.org/10.1093/jme/tjaa079>

Elias S., Witham J., Hunter M. (2004). *Peromyscus leucopus* Abundance and Acorn Mast: Population Fluctuation Patterns over 20 Years. *Journal of Mammalogy*, 85. 743-747. 10.1644/BER-025.

Estrada-Peña A., Estrada-Sánchez D. (2014). Deconstructing *Ixodes ricinus*: a partial matrix model allowing mapping of tick development, mortality and activity rates. *Medical Veterinary Entomology*, 28:35–49. doi: 10.1111/mve.12009.

European Medicine Agency. (2015). Annexe 1 : résumé des caractéristiques du produit (Simparica, Sarolaner). [http://www.ema.europa.eu/docs/fr\\_FR/document\\_library/EPARProduct\\_Information/veterinary/003991/WC500199082.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/fr_FR/document_library/EPARProduct_Information/veterinary/003991/WC500199082.pdf)

Exzolt, INN-Fluralaner. (2014). Summary of product characteristics. *European Medicines Agency*, [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/exzolt-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/exzolt-epar-public-assessment-report_en.pdf)

Ferrell A., Brinkerhoff R. (2018). Using landscape analysis to test hypotheses about drivers of tick abundance and infection prevalence with *Borrelia burgdorferi*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15, 737.

Gassel M., Wolf C., Noack S., Williams H., Ilg T. (2014). The novel isoxazoline ectoparasiticide fluralaner: selective inhibition of arthropod  $\gamma$ -aminobutyric acid- and L-glutamate-gated chloride channels and insecticidal/acaricidal activity. *Insect biochemistry and molecular biology*, 45, 111–124. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2013.11.009>

Giardina AR., Schmidt KA., Schaubert EM., Ostfeld RS. (2000). Modeling the role of songbirds and rodents in the ecology of Lyme disease. *Canadian Journal of Zoology*, 78: 2184–2197.

Gleim ER., Zemtsova GE., Berghaus RD. (2019). Frequent Prescribed Fires Can Reduce Risk of Tick-borne Diseases. *Scientific Reports*, 9, 9974. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46377-4>

Gouvernement du Canada. (2020). *Risk of Lyme Disease to Canadians*. <https://www.canada.ca/en/public-health/services/diseases/lyme-disease/risk-lyme-disease.html>

Gouvernement du Canada. (2021). Fiche technique Santé-Sécurité : Agents pathogènes- *Virus de l'encéphalite de Powassan*. <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/biosecurite-biosurete-laboratoire/fiches-techniques-sante-securite-agents-pathogenes-evaluation-risques/virus-encephalite-powassan.html>

Government of Canada. (2021). *Guananoque, Ontario*. [https://weather.gc.ca/city/pages/on-90\\_metric\\_e.html](https://weather.gc.ca/city/pages/on-90_metric_e.html)

Gear JS., Koethe R., Hoskins B., Hillger R., Dapsis L., Pongsiri M. (2014). The effectiveness of permethrin-treated deer stations for control of the Lyme disease vector *Ixodes scapularis* on Cape Cod and the islands: a five-year experiment. *Parasites Vectors* 7: 292.

Hamer SA., Tsao JI., Walker ED., Hickling GJ. (2010). Invasion of the Lyme disease vector *Ixodes scapularis*: Implications for *Borrelia burgdorferi* endemicity. *EcoHealth*, 7: 47–63.

Horak I., Gallivan G.J., Spickett A., Potgieter A.L.F. (2006). Effect of burning on the numbers of questing ticks collected by dragging. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 73:163–174.

Hornsby A. G., Wauchope R. D., Herner A. E. (1996). Pesticide Properties in the Environment. *Springer*, New York, pp 1-3, 7-15.

Keesing F., Holt R.D., Ostfeld R.S. (2006), Effects of species diversity on disease risk. *Ecology Letters*, 9: 485-498. doi:10.1111/j.1461-0248.2006.00885.x

Khalil H., Ecke F., Evander M., Magnusson M. and al. (2016). Declining ecosystem health and the dilution effect. *Scientific Reports*, 6, 31314, doi: <https://doi.org/10.1038/srep31314>

Kilpatrick A. M., Altizer S. (2010) Disease Ecology. *Nature Education Knowledge*, 3(10):55

Kilpatrick HJ., LaBonte AM., Stafford KC. (2014). The relationship between deer density, tick abundance, and human cases of Lyme disease in a residential community. *Journal of Medical Entomology*, 51(4):777-84. doi: 10.1603/me13232.

Kilpatrick A.M., Dobson A.D.M., Levi T., Salkeld D.J., Swei A., Ginsberg S. (2017). Lyme disease ecology in a changing world: consensus, uncertainty, and critical gaps for improving control. *Philosophical Transactions Royal Society London Ser B Biological Sciences*, 372:20160117.

Kocan K. M., de la Fuente J., Coburn L. A. (2015). Insights into the development of *Ixodes scapularis*: a resource for research on a medically important tick species. *Parasites & vectors*, 8, 592. <https://doi.org/10.1186/13071-015-1185-7>

Krawczyk A.I., van Duijvendijk G.L.A., Swart A. and al. (2020). Effect of rodent density on tick and tick-borne pathogen populations: consequences for infectious disease risk. *Parasites Vectors*, 13, 34, <https://doi.org/10.1186/s13071-020-3902>

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

Lackey J.A., Huckaby D.G., Ormiston B. (1985). *Peromyscus leucopus*, *Mammalian Species*, 247, 1–10, <https://doi.org/10.2307/3503904>

Lefcort H., Durden LA. (1996). The effect of infection with Lyme disease spirochetes (*Borrelia burgdorferi*) on the phototaxis, activity, and questing height of the tick vector *Ixodes scapularis*. *Parasitology*, 113:97–103. doi: 10.1017/S0031182000066336.

Lindsay LR., Barker IK., Surgeoner GA., McEwen SA., Gillespie TJ., Addison EM. (1998). Survival and development of the different life stages of *Ixodes scapularis* (Acari:

Ixodidae) held within four habitats on Long Point, Ontario, Canada. *Journal of Medical Entomology*, 35(3):189-99. doi: 10.1093/jmedent/35.3.189.

Llewellyn DM., Brazier A., Brown R., Cocker J., Evans M.L. (1996). Occupational exposure to permethrin during its use as a public hygiene insecticide. *Annals of Occupational Hygiene*, 40(5):499-509.

LoGiudice K., Ostfeld R.S, Schmidt K.A., Keesing F. (2003). The ecology of infectious disease: Effects of host diversity and community composition on Lyme disease risk. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100 (2) 567-571; doi: 10.1073/pnas.0233733100

Martin AJ., Aprance HE., Dloter KO., Brown SE. (1981). Ixodes dammini (Acari: Ixodidae) on white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) in Connecticut. *Journal of Medical Entomology*, 18:487-492.

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

McTier T. L., Chubb N., Curtis M.P. and al. (2016). Discovery of sarolaner: A novel, orally administered, broad-spectrum, isoxazoline ectoparasiticide for dogs. *Veterinary Parasitology*, 222:3-11. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401716300425>

Merck. (2021). *Merck Animal Health Receives U.S FDA Approval of BRAVECTO (fluralaner) Monthly Chews*. <https://www.merck.com/news/merck-animal-health-receives-u-s-fda-approval-of-bravecto-fluralaner-monthly-chews/>

Miller R. J., Davey R. B., George J. E. (2007). First report of permethrin-resistant *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) collected within the United States. *Journal of medical entomology*, 44(2), 308-315. [https://doi.org/10.1603/0022-2585\(2007\)44\[308:fropbm\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1603/0022-2585(2007)44[308:fropbm]2.0.co;2)

Morand S., Krasnov BR., Poulin R. (2006). Micromammals and macroparasites. *Tokyo: Springer-Verlag*.

Neff D.J. (1968). The pellet-group count technique for big game trend, census, and distribution: A review. *The Journal of Wildlife Management*, 32:597-614.

Ogden N.H., Maarouf A., Barker IK., Bigras-Poulin M., Lindsay LR., Morshed MG., Charron DF. (2006). Climate change and the potential for range expansion of the Lyme disease vector *Ixodes Scapularis* in Canada. *International Journal for Parasitology*, 36 (1), 63-70.

Ogden NH., Lindsay LR., Morshed M., Sockett PN., Artsob H. (2009). The emergence of Lyme disease in Canada. *Canadian Medical Association Journal*, 180:1221–1224.

Ogden NH., Tsao TI. (2009). Biodiversity and Lyme disease: Dilution or amplification? *Epidemics*, 1:3, 196-206, <https://doi.org/10.1016/j.epidem.2009.06.002>.

Ogden N.H., Bouchard C., Badcock J. and al. (2019). What is the real number of Lyme disease cases in Canada? *BMC Public Health*, 19, 849, <https://doi.org/10.1186/s12889-019-7219-x>

Ostfeld R.S., Hazler K.R. Cepeda O.M. (1996). Temporal and Spatial Dynamics of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in a Rural Landscape, *Journal of Medical Entomology*, 33;1, 90–95, <https://doi.org/10.1093/jmedent/33.1.90>

Ostfeld RS., Keesing F. (2000). Biodiversity and disease risk: The case of Lyme disease. *Conservation Biology*. 14: 722–728.

Ostfeld R.S., Schaubert E.M., Canham C.D., Keesing F. Jones C.G., Wolff J.O. (2001). Effects of acorn production and mouse abundance on abundance and *Borrelia burgdorferi* infection prevalence of nymphal *Ixodes scapularis* ticks. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 1:55-63.

Ostfeld RS., Canham CD., Oggenfuss K., Winchcombe RJ., Keesing F. (2006). Climate, deer, rodents, and acorns as determinants of variation in Lyme-disease risk. *PLoS Biology*, 4:e145. doi: 10.1371/journal.pbio.0040145.

Ostfeld RS. (2011). Lyme disease: the ecology of a complex system. *New York: Oxford University Press*. P.216

Pelletier J., Rocheleau J. P., Aenishaenslin C., Beaudry F., Dimitri Masson G., Lindsay L. R., Ogden N. H., Bouchard C., Leighton P. A. (2020). Evaluation of fluralaner as an oral acaricide to reduce tick infestation in a wild rodent reservoir of Lyme disease. *Parasites & vectors*, 13(1), 73. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-3932-7>

Pepin K. M., Eisen R. J., Mead P. S., Piesman J., Fish D., Hoen A. G., Barbour A. G., Hamer S., Diuk-Wasser M. A. (2012). Geographic variation in the relationship between human Lyme disease incidence and density of infected host-seeking *Ixodes scapularis* nymphs in the Eastern United States. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 86(6), 1062–1071. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2012.11-0630>

Prohaczik A., Menge C. and al. (2017). Safety of fluralaner oral solution, a novel systemic antiparasitic treatment for chickens, in laying hens after oral administration via drinking water. *Parasites and Vectors*. doi: 10.1186/s13071-017-2291-5



Prusinski MA., Chen H., Drobnack JM., Kogut SJ., Means RG., Howard JJ. and al. (2006). Habitat structure associated with *Borrelia burgdorferi* prevalence in small mammals in New York State. *Environmental Entomology*. 35:308–319. doi: 10.1603/0046-225X-35.2.308.

R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.

Rand P.W., Lubelczyk C., Holman M.S., Lacombe E.H., Smith R.P. (2004). Abundance of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) After the Complete Removal of Deer from an Isolated Offshore Island, Endemic for Lyme Disease, *Journal of Medical Entomology*, 41;4, 779–784, <https://doi.org/10.1603/0022-2585-41.4.779>

Raveton R., Aajoud A., Willison J., Cherifi M., Tissut M., Ravanel P. (2007). Soil distribution of fipronil and its metabolites originating from a seed-coated formulation, *Chemosphere*, 69(7), 1124-1129. doi: 10.1016/j.chemosphere.2007.03.063

Rodgers SE., Zolnik CP., Mather TN. (2007). Duration of exposure to suboptimal atmospheric moisture affects nymphal blacklegged tick survival. *Journal of Medical Entomology*, 44:372–375. doi: 10.1093/jmedent/44.2.372.

Ruyts S.C., Ampoorter E., Coipan E.C., Baetan L., Heylen D. and al. (2016). Diversifying forest communities may change Lyme disease risk: extra dimension to the dilution effect in Europe. *Parasitology*, 1-10, doi:10.1017/S0031182016000688

Salomon J., Hamer S.A., Swei A. (2020). A Beginner's Guide to Collecting Questing Hard Ticks (Acari: Ixodidae): A Standardized Tick Dragging Protocol, *Journal of Insect Science*, 20;6, 11, <https://doi.org/10.1093/jisesa/ieaa073>

Schmidt KA., Ostfeld RS. (2001). Biodiversity and the dilution effect in disease ecology. *Ecology*, 82: 609–619.

Schulze T. L., Jordan R. A., Hung R. W. (1995). Suppression of subadult *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) following removal of leaf litter. *Journal of medical entomology*, 32(5), 730–733. <https://doi.org/10.1093/jmedent/32.5.730>

Schulze TL., Jordan RA., Hung RW. (2001). Effects of selected meteorological factors on diurnal questing of *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae), *Journal of Medical Entomology*, 38:318–324. doi: 10.1603/0022-2585-38.2.318.

Schulze T. L., Jordan R. A., Krivenko A. J. (2005). Effects of barrier application of granular deltamethrin on subadult *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) and nontarget forest floor arthropods. *Journal of economic entomology*, 98(3), 976–981. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-98.3.976>

Schulze TL., Jordan RA., Schulze CJ., Healy SP., Jahn MB., Piesman J. (2007). Integrated use of 4-Poster passive topical treatment devices for deer, targeted acaricide applications, and Maxforce TMS bait boxes to rapidly suppress populations of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in a residential landscape. *Journal of Medical Entomology*, 44(5):830-9. doi: 10.1603/0022-2585

Six R.H., Liebenberg J., Honsberger N.A., Mahabir S.P. (2016). Comparative Kill Speed of Sarolaner (Simparica) and Fluralaner (Bravecto) against induced infestations of *Ctenocephalides felis* on Dogs. *Parasites Vectors*, 9 :92. doi : 10.1186/s13071-016-1373-0

Sojka P.A. (2018). Isoxazolines. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 27(2):118-122.

Stafford KC. III (1992). Third-year evaluation of host-targeted permethrin for the control of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) in southeastern Connecticut. *Journal of Medical Entomology*, 29(4):717–20.

Stafford KC. III. (1994). Survival of immature *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) at different relative humidities. *Journal of Medical Entomology*, 31: 310-214.

Stafford K. C. III, Ward J. S., Magnarelli L. A. (1998). Impact of controlled burns on the abundance of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, 35, 510–513

Stafford K., Williams S., Molaei G. (2017). Integrated Pest Management in Controlling Ticks and Tick-Associated Diseases. *Journal of Integrated Pest Management*. 8. 1-7. 10.1093/jipm/pmx018.

Stickel L. F. (1968). Home range and travels. Biology of *Peromyscus* (Rodentia) (J. A. King, ed.). *Special Publication, American Society of Mammalogists*, 2:1-593. p. 373-411

Talbot B., Slatculescu A., Thickstun C.R. and al. (2019). Landscape determinants of density of blacklegged ticks, vectors of Lyme disease, at the northern edge of their distribution in Canada. *Scientific Reports*, 9, 1665, doi:https://doi.org/10.1038/s41598-019-50858-x

Tälleklint L., Jaenson T.G.T. (1996). Relationship between *Ixodes ricinus* density and prevalence of infection with *Borrelia*-like spirochetes and density of infected ticks. *Journal of Medical Entomology*, 33: 805–811.

TimeandDate. (2021). Past Weather in Guananoque, Ontario, Canada. <https://www.timeanddate.com/weather/@5959326/historic>

Tingle CC., Rother J.A., Dewhurst C.F., Lauer S., King WJ. (2003). Fipronil: environmental fate, ecotoxicology and human health concerns, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 176:1-66

Toynton K., Luukinen B., Buhl K., Stone D. (2009). *Permethrin Technical Fact Sheet*; National Pesticide Information Center, Oregon State University Extension Services. <http://npic.orst.edu/factsheets/Permttech.html>.

Stratton G.W., Corke C.T. (1982). Toxicity of the insecticide permethrin and some degradation products towards algae and cyanobacteria, *Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological*, 29;1, 71-80, [https://doi.org/10.1016/0143-1471\(82\)90055-1](https://doi.org/10.1016/0143-1471(82)90055-1).

Vail SG., Smith G. (1998). Air temperature and relative humidity effects on behavioral activity of blacklegged tick (Acari: Ixodidae) nymphs in New Jersey. *Journal of Medical Entomology*, 35(6):1025-8. doi: 10.1093/jmedent/35.6.1025.

Vatta A.F., Young D.R., King V.L., Myers M.R. (2019). Comparative efficacy of topical treatments with Revolution® Plus (selamectin and sarolaner) and Bravecto® for Cats (fluralaner) against Ixodes scapularis ticks on cats. *Veterinary Parasitology*, 270:P, S58-S63

Venables W. N., Ripley B. D. (2002) *Modern Applied Statistics with S. Fourth Edition*. Springer, New York. ISBN 0-387-95457-0

Vourc'h G., Abrial D., Bord S., Jacquot M., Masségli S., Poux V., Pisanu B., Bailly X., Chapuis J-L. (2016). Mapping human risk of infection with *Borrelia burgdorferi* sensu lato, the agent of Lyme borreliosis, in a periurban forest in France, *Ticks and Tick-borne Diseases*, 7;5, 644-652, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.02.008>.

Werden L., Barker I. K., Bowman J., Gonzales E. K., Leighton P. A., Lindsay L. R., Jardine C. M. (2014). Geography, deer, and host biodiversity shape the pattern of Lyme disease emergence in the Thousand Islands Archipelago of Ontario, Canada. *PloS one*, 9(1), e85640. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085640>

Wilson D. R., Martinez T. R. (1997). Instance pruning techniques. *International Machine Learning Society*, 97, 403-411.

Wilson D. R., Martinez T. R. (2000): Reduction techniques for instance-based learning algorithms. *Machine learning*, 38(3), 257-286.

Wolff J.O. (1996). Coexistence of White-footed mice and deer mice may be mediated by fluctuating environmental conditions. *Oecologia*, 108:529-533. doi: 10.1007/BF00333730

Zeileis A., Hothorn T. (2002). Diagnostic Checking in Regression Relationships. *R News*, 2(3), 7-10. <https://CRAN.R-project.org/doc/Rnews/>

Zhao C., Casida JE. (2014). Insect  $\gamma$ -aminobutyric acid receptors and isoxazoline insecticides: toxicological profiles relative to the binding sites of [<sup>3</sup>H]fluralaner, [<sup>3</sup>H]-4'-ethynyl-4-n-propylbicycloorthobenzoate, and [<sup>3</sup>H]ivermectin. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 62(5):1019-24, doi: 10.1021/jf4-5-809

Zoetis U.S. (2021). *Simparica: Sarolaner Chewables*, <https://www.zoetisus.com/products/dogs/simparica/index.aspx>

Zuur A.F, Ieno E.N, Walker N.J, Saveliev A.A, Smith, G.M. (2009). *Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R*. Springer, p.20

# Chapitre 3 : Discussion générale

## Introduction

L'objectif de mon protocole était, dans un premier temps, de traiter les micromammifères résidents de mon terrain d'étude avec une molécule d'isoxazoline afin de réduire l'infestation moyenne des animaux traités. En fournissant un traitement antiparasitaire à l'hôte principal des stades immatures de la tique, *Peromyscus spp.*, j'espérais parvenir à réduire le nombre de nymphes dans l'environnement. Finalement, l'évaluation de différentes variables biotiques et abiotiques m'a permis d'évaluer l'impact des variables mesurées sur l'efficacité de mon traitement, autant au niveau de l'animal que sur la population de tiques dans l'environnement.

Mon protocole s'est avéré efficace pour réduire la charge parasitaire moyenne des souris capturées en région traitée, pour 3 des 5 sites étudiés. La courte durée du traitement n'ayant pas permis de constater une diminution du nombre de nymphes dans l'environnement, il n'a pas été possible d'évaluer l'impact de la biodiversité sur cet aspect du protocole. Par contre, les résultats prometteurs chez les rongeurs seraient suffisants pour justifier de tester ces molécules à plus long terme.

## Effets du traitement

L'effet du traitement sur la souris était significatif pour diminuer le nombre moyen de tiques par souris, et ce pour 3 des 5 sites évalués. Plusieurs facteurs pourraient expliquer ce résultat, en plus des variables mesurées par notre protocole et employées lors des tests statistiques. Certaines variables confondantes pourraient avoir un impact sur nos observations. Par exemple, une étude évaluant l'efficacité du fluralaner sur *Peromyscus leucopus* en laboratoire démontre que le traitement est efficace pour diminuer l'infestation moyenne des souris 48h après l'administration du traitement, mais la différence avec le groupe contrôle devient non significative après 28 jours. Ce résultat indique que la période de couverture antiparasitaire du fluralaner pourrait être réduite chez la souris, puisque ce médicament est homologué pour assurer une protection d'une durée de 3 mois chez le chien (European Medical Agency 2014, Bravecto 2020). Cette différence pourrait être dû à une

clairance hépatique plus rapide chez la souris à patte blanche, étant donné un débit sanguin hépatique environ 3x plus élevé que chez le chien (Kilp et al. 2014, Davies et Morris 1993, Pelletier et al. 2020). Basée sur cette étude, qui à notre connaissance est la seule testant une isoxazoline chez *P. leucopus* dans un environnement contrôlé, il semblerait que le traitement serait efficace chez la souris pour une période se situant entre 2 jours et 4 semaines. Notre protocole de traitement s'étendant sur une période de 9 semaines en 2018 (30 mai au 25 juillet) et 11 semaines en 2019 (27 mai au 5 août), nous pouvons donc estimer que la population de *P. leucopus* de nos terrains traités bénéficiait d'une protection antiparasitaire efficace tout au plus jusqu'au 22 août en 2018 et jusqu'au 2 septembre en 2019. Logiquement, l'efficacité observée au niveau du rongeur lors de la capture serait influencée par le délai entre la fin du traitement et le moment de capture. D'ailleurs, nos journées de capture les plus tardives se situaient dans un intervalle estimé sécuritaire pour l'efficacité du traitement, soit le 9 août en 2018 (15 jours post-traitement) et le 16 août en 2019 (11 jours post-traitement). En 2019, le traitement a été poursuivi plus longtemps pendant la période de capture (une extension de 2 semaines) afin d'assurer une couverture le plus longtemps possible à l'intérieur de la période d'activité des larves. En résumé, plus la durée du traitement est courte, moins les rongeurs de notre terrain d'étude sont traités efficacement vers la fin de la saison.

Il est clair dans la littérature que les larves peuvent être en recherche active d'hôtes jusqu'au mois de septembre, bien que leur comportement soit influencé par les caractéristiques biotiques et abiotiques de leur environnement (Spielman et al. 1985, Lindsay et al. 1998, Lindsay et al. 1999, Piesman et Gern 2005). Nos propres résultats de flanelle révèlent un pic d'activité clair des larves au mois d'août. N'ayant pas effectué de collecte de tiques plus tard dans la saison, nous ne pouvons que supposer que ce stade est encore actif au début de l'automne sur nos terrains d'étude. Ces larves actives plus tardivement pourraient avoir complété leur repas sanguin avec succès sur un individu traité auparavant dans la saison, augmentant ainsi le nombre de nymphes l'année suivante en terrain traité. Donc, bien que l'efficacité du traitement au niveau individuel ne devrait pas changer pour la souris à l'intérieur de la période de couverture, l'effet du traitement sur la réduction des nymphes dans l'environnement pourrait être compromis. D'ailleurs, rappelons que le traitement n'a pas produit de résultats significatifs pour réduire la densité

de tiques dans l'environnement. Il paraît probable que cette constatation résulte en majorité de la courte durée du protocole, soit seulement deux étés de traitement. Toutefois, l'absence de couverture antiparasitaire probable des souris traitées en fin de saison pourrait également avoir eu un impact sur nos résultats.

Finalement, aucune étude testant l'efficacité du sarolaner chez *P. leucopus* n'existe à ce jour à notre connaissance, il est donc difficile d'estimer la période de couverture théorique de la population traitée sur le terrain. L'homologation de cette molécule étant plus courte chez le chien que le fluralaner, ceci pourrait suggérer une période de couverture plus courte chez la souris sauvage pour le sarolaner (European Medical Agency 2014, European Medical Agency 2015, Bravecto 2020).

Une autre variable qu'il est intéressant de mentionner est le degré d'engorgement des tiques récoltées sur les souris capturées. En effet, deux études évaluant l'efficacité du fluralaner en laboratoire ont noté que les tiques encore présentes sur les animaux traités pouvaient être en fait mortes, bien que toujours accrochées à leur hôte (Fisara et Webster 2015, Pelletier et al. 2020). L'étude de Pelletier *et al.* démontrait que le taux de mortalité des tiques encore accrochées était la seule différence significative entre les groupes contrôle et traitement, 28 jours après l'administration du traitement. Cet aspect est important à prendre en compte si la seule variable utilisée pour évaluer l'effet du traitement est le nombre de tiques sur la souris, puisque l'efficacité du traitement pourrait être davantage significative en comparant le nombre de tiques vivantes accrochées entre les groupes. En contexte de laboratoire, le statut de la tique (vivante ou morte) peut être évalué aux binoculaires, en observant le mouvement des pattes, des pièces buccales ou de l'intestin moyen (Pelletier et al. 2020). Lors de notre étude de terrain, le statut d'engorgement de la tique était noté pour estimer le taux de mortalité en absence de binoculaire, notre théorie étant qu'une tique morte suite au traitement, mais demeurant attachée à son hôte, n'atteindrait pas un degré d'engorgement visible à l'œil nu. Malgré notre hypothèse, aucune différence significative n'était visible entre les groupes; soit 77% de tiques engorgées dans le traitement contre 73% dans le contrôle. Il est toutefois possible que l'observation visuelle effectuée en laboratoire soit plus précise pour évaluer le statut de la tique.

## Résultats de la capture

Lors du choix des sites d'étude, un de mes objectifs était de sélectionner des territoires avec une biodiversité de micromammifères différente afin d'évaluer l'impact de cette variable sur l'efficacité du traitement. Mon hypothèse soutenait que la diversité d'hôtes disponibles pour les stades immatures de la tique peut influencer non seulement la densité de tiques dans l'environnement et la prévalence de *Borrelia* chez ces tiques, mais également l'efficacité du traitement. En effet, les boîtes à appâts utilisées pour distribuer le traitement étant conçues pour permettre l'accès aux souris à travers une petite ouverture, ce ne sont pas tous les micromammifères sauvages qui peuvent consommer le traitement (pestcontrolstation 2021). J'estime que les espèces *Peromyscus* et *Blarina* peuvent se glisser facilement par l'ouverture des boîtes à appâts tandis que *Tamiasciuris* et *Glaucomys* sont clairement trop grandes pour accéder au médicament. Les espèces *Tamias* et *Scalopus* sont de taille intermédiaire et il est difficile de savoir avec certitude leur capacité à se faufiler par l'ouverture; une tentative de les glisser dans la boîte à appât fut effectuée sur des individus anesthésiés, sans succès. Il est par contre difficile d'estimer la capacité de l'animal à se contorsionner pour atteindre le beurre d'arachide.

En fournissant des hôtes non traités potentiels pour les tiques de notre terrain d'étude, ces espèces pourraient modifier l'efficacité du traitement. Premièrement, si ces petits mammifères non traités peuvent fournir un repas sanguin réussi aux tiques présentes dans l'environnement, une forte biodiversité pourrait nuire à la réduction du nombre de tiques grâce au traitement. Ensuite, l'impact sur l'efficacité du traitement à diminuer la prévalence de *Borrelia* chez les tiques en terrain traité dépend de la compétence en tant que réservoir de ces hôtes alternatifs. Par exemple, si ces micromammifères sont de mauvais réservoir pour le pathogène et « diluent » la prévalence en augmentant la proportion de nymphes non infectées, l'efficacité du traitement à diminuer le risque de maladie de Lyme pourrait demeurer excellente, malgré une densité de tiques apparemment inchangée. D'ailleurs, l'écureuil roux est considéré comme un des hôtes participants à ce phénomène de dilution, puisque portant une grande charge parasitaire tout en étant un réservoir médiocre pour *Borrelia*. À l'inverse, les tamias et les musaraignes sont des hôtes compétents, en plus de porter une bonne partie du fardeau parasitaire associé aux tiques.



Une forte densité de tamias, assumant qu'ils n'ont pas accès au traitement, diminuerait donc l'efficacité du traitement autant concernant la densité de tiques dans l'environnement qu'en lien avec la prévalence de *Borrelia burgdorferi* chez ces tiques (LoGiudice et al. 2003). Les musaraignes sont reconnues pour permettre de maintenir le pathogène dans les environnements où la densité de souris à pattes blanches est faible; j'espère toutefois être capable de traiter ces petits mammifères puisqu'ayant accès au traitement (LoGiudice et al. 2003, Brisson et al. 2007). Lors de mon protocole, 9 musaraignes seulement ont été manipulées, il est donc difficile de conclure sur le traitement de cette espèce. Huit des 9 musaraignes n'avaient aucune tique détectable; 30 tiques ont été prélevées sur la dernière musaraigne, qui avait été capturée en région contrôle du site Hill Island.

En lien avec la compétence différentielle des espèces préalablement discutées, le tableau ci-dessous compare la charge parasitaire moyenne de chacune des espèces capturées. Afin d'éviter un biais induit par le traitement, seulement les micromammifères capturés dans les terrains contrôlent ainsi que les espèces nettement trop grandes pour accéder au traitement (*Tamiasciurus*, *Glaucomys*) ont été incluses.

Tableau I. Résumé de la charge parasitaire en tiques pour chacune des espèces manipulées non traitées.

<b>Espèces (nombre d'individus)</b>	<b>Nombre de tiques en moyenne par individu (infestation moyenne)</b>
<i>Peromyscus</i> (188)	19,2
<i>Tamias</i> (3)	1,7
<i>Blarina</i> (2)	15,0
<i>Glaucomys</i> (2)	1,5

À noter que plusieurs individus d'espèces autres que *Peromyscus* ont été relâchés sans être manipulés, car ils étaient souvent retrouvés en très mauvais état dans le piège. Puisque nous tenions à leur éviter l'anesthésie, nous avons donc moins de données

concernant l'infestation de ces espèces. De plus, les écureuils roux (*Tamiasciurus*) n'ont pas été manipulés malgré leur vigueur, car ils étaient trop grands pour notre équipement anesthésique, en plus d'être très agressif.

Afin d'obtenir le gradient de biodiversité visé, le choix de mes sites d'étude fut basé sur les résultats de capture obtenus par Lisa Werden, candidate à la maîtrise à l'Université de Guelph. Les données récoltées lors de cette capture en 2009-2010 ont été comparées avec celles obtenues par mon équipe en 2018-2019.

Tableau II. Résumé du nombre de micromammifères capturés pour chaque espèce lors de la capture de 2008-2009 et 2018-2019

Site	Résultats de la capture de Lisa Werden 2009-2010 (nombre capturé par espèce)	Résultats de la capture actuelle 2018-2019 (nombre capturé par espèce)
<b>Thwartway</b>	<i>Peromyscus spp.</i> (73) <i>Microtus pennsylvanicus</i> (2)	<i>Peromyscus spp.</i> (143)
<b>Grenadier</b>	<i>Peromyscus spp.</i> (105) <i>Blarina brevicauda</i> (6) <i>Tamias striatus</i> (4) <i>Mustela erminea</i> (2)	<i>Peromyscus spp.</i> (117) <i>Blarina brevicauda</i> (3)
<b>Jones Creek</b>	<i>Peromyscus spp.</i> (44) <i>Blarina brevicauda</i> (29) <i>Tamias striatus</i> (22) <i>Glaucmys spp.</i> (3) <i>Sorex cinereus</i> (1)	<i>Peromyscus spp.</i> (210) <i>Blarina brevicauda</i> (7) <i>Tamias striatus</i> (11) <i>Scalopus aquaticus</i> (1)
<b>Hill Island</b>	<i>Peromyscus spp.</i> (70) <i>Blarina brevicauda</i> (15) <i>Tamias striatus</i> (23) <i>Glaucmys spp.</i> (3) <i>Tamiasciurus hudsonicus</i> (1)	<i>Peromyscus spp.</i> (215) <i>Blarina brevicauda</i> (12) <i>Tamias striatus</i> (10) <i>Glaucmys spp.</i> (1)
<b>Landon Bay</b>	<i>Peromyscus spp.</i> (19) <i>Tamias striatus</i> (10) <i>Blarina brevicauda</i> (9)	<i>Peromyscus spp.</i> (105) <i>Tamias striatus</i> (7) <i>Blarina brevicauda</i> (2) <i>Glaucmys spp.</i> (3) <i>Tamiasciurus hudsonicus</i> (3) <i>Scalopus aquaticus</i> (2)

*Peromyscus* spp.: souris, *Microtus pennsylvanicus* : campagnols, *Blarina brevicauda* : musaraignes d'Amérique, *Mustela erminea* : hermines, *Tamias striatus*: tamias, *Scalopus aquaticus* : taupe à queue glabre, *Glaucomys* spp. : grand polatouche, *Sorex cinereus* : musaraignes, *Tamiasciurus hudsonicus* : écureuil roux

En comparant la biodiversité présente sur chacun des sites lors des deux périodes de capture, il est possible qu'un changement dans les populations de micromammifères présentes sur les sites ait eu lieu. Par contre, certaines différences au niveau du protocole de capture pourraient expliquer ces variations. Par exemple, bien que l'équipe de Lisa Werden utilisât les mêmes pièges que notre équipe (piège à capture vivante Sherman), des graines de tournesol étaient utilisées comme appâts tandis que notre utilisation de l'avoine mélangée à du beurre d'arachide. À cet effet, une étude réalisée dans le Wyoming s'est penchée sur l'influence du choix de l'appât sur le type d'espèces capturées; une différence significative a été détectée entre le beurre d'arachide et un mélange de graines pour la plupart des espèces (Harkins et al. 2019). De plus, une différence importante à noter est l'ajout d'une période de capture de jour dans le protocole actuel, ce qui permet de détecter certaines espèces diurnes supplémentaires. Une bonne proportion de tamias (18 sur 28) ainsi que 2 des 3 écureuils roux furent capturés durant la journée. Malgré ces différences de protocole, il demeure probable que les populations fluctuent entre les années, comme il a pu être observé clairement entre nos deux années de capture. Comme mentionné dans l'article scientifique présenté dans ce mémoire, la présence de prédateurs, les ressources alimentaires, l'autorégulation et les froids hivernaux sont tous des facteurs variables qui peuvent expliquer les fluctuations entre les années (Wolff 1996, Elias et al. 2004, Arguez 2019). Finalement, mentionnons que pour les populations qui semblent peu denses, par exemple la taupe à queue glabre (*Scalopus aquaticus*) et le polatouche (*Glaucomys* spp.), la capture d'un seul individu peut influencer grandement l'évaluation de la biodiversité sur un site. Une évaluation précise de la biodiversité est importante dans la perspective où elle aurait un impact important sur l'efficacité du traitement. La méthode de capture et le type d'appât utilisé doivent permettre d'évaluer la densité des micromammifères dont la présence est susceptible d'influencer les résultats du protocole. De manière similaire, si la biodiversité fluctue sur un site à travers les années, cela pourrait vouloir dire que le

traitement est plus efficace lors de certaines périodes, lorsque la composition de la faune est optimale pour le traitement.

Malgré nos hypothèses, l'influence de la biodiversité sur le traitement fut testée sous forme d'interaction dans nos modèles statistiques expliquant le nombre de nymphes en recherche active d'hôtes. Cette interaction était non significative (valeur-p = 0,9 pour interaction biodiversité : fluralaner, valeur-p = 0,95 pour interaction biodiversité : sarolaner) et n'améliorait pas la qualité de notre modèle statistique. Il est probable que l'impact de la biodiversité sur le traitement soit difficile à mesurer dans l'environnement puisque le traitement en lui-même ne produisait pas de résultats significatifs. L'interprétation des résultats de cette interaction est donc limitée. En absence de données sur la prévalence de *Borrelia*, nous ne pouvons malheureusement pas évaluer l'impact de la biodiversité sur la capacité du traitement à réduire la prévalence de la maladie de Lyme chez les tiques dans l'environnement.

## **Limites du projet**

Une des limites de l'étude était sa courte durée, qui réduisait ma capacité à détecter des effets cumulatifs du traitement au niveau de la population de tiques. L'efficacité du traitement n'a donc pas été clairement démontrée au niveau du nombre de nymphes en recherche active d'hôtes, qui sont considérées comme le stade représentant le plus grand risque pour l'humain. En effet, les larves ne peuvent être porteuses de *Borrelia* avant leur premier repas sanguin. Les adultes étant bien plus grosses, elles sont plus à risque d'être découverte et retirée avant d'avoir pu transmettre la bactérie (CDC, 2020a). Bien que les résultats du niveau d'infestation de *Peromyscus spp.* soient encourageants, le protocole ne peut être considéré efficace que s'il réduit le risque de maladie de Lyme pour la population en contact avec le territoire traité. Il est logique que l'effet dans l'environnement augmente au fil des années de traitement, et ne soit appréciable qu'après un délai plus long que celui permis par notre étude. Les larves qui sont tuées en partie par les micromammifères traités réduisent la prochaine cohorte de nymphes, mais l'effet cumulatif du traitement n'est véritablement visible que lors des années suivantes. Lorsque ce nombre réduit de nymphes devient des adultes féconds, et que les larves de ces adultes sont à nouveau tuées en partie

par le traitement, alors le nombre de nymphes dans l'environnement pourrait être significativement diminué.

Une deuxième limite claire de cette étude est le manque de résultats reliés à la prévalence de *Borrelia burgdorferi*, autant chez les tiques récoltées que chez les micromammifères résidents de nos terrains d'études. La densité de nymphes infectées (DIN dans la littérature) est considérée comme le meilleur prédicteur du risque de maladie de Lyme pour l'humain (Kurtenbach et al. 2006, Vourc'h et al. 2016). Logiquement, un territoire comportant une densité moyenne de tiques, mais une très forte prévalence de *Borrelia* serait considéré plus à risque qu'un site avec une très forte densité de nymphes, mais où les hôtes ne permettent pas la propagation de la bactérie. La densité de nymphes infectées est dépendante de la proportion de nymphes porteuses de la bactérie. Plusieurs études ont démontré que cette prévalence est corrélée positivement avec la densité absolue de souris *Peromyscus* et une faible biodiversité de micromammifères (Ostfeld et Keesing 2000, Schmidt and Ostfeld 2001). Dans cette optique, il aurait été intéressant d'évaluer l'impact de la biodiversité sur la prévalence de *Borrelia* chez les tiques. Étant donné le fait que *Peromyscus* est le réservoir le plus compétent pour la bactérie, le traitement pourrait avoir un impact plus notable sur la prévalence du spirochète que sur la densité de tiques. Cette hypothèse est particulièrement valide pour les territoires avec une haute biodiversité et une faible densité de souris. En offrant plusieurs hôtes alternatifs aux stades immatures de la tique, les micromammifères dilueraient l'effet du traitement sur la densité de tiques. L'impact sur la prévalence peut toutefois être encore significatif si ces autres micromammifères ne sont pas des réservoirs aussi compétents (Mather et al. 1989, LoGiudice et al. 2003, Brisson et al. 2007, Richter et al. 2011). Finalement, d'autres impacts du traitement sur la bactérie auraient pu être étudiés. Par exemple, en diminuant l'infestation de tiques chez les populations de souris traitées, j'aurais pu potentiellement mesurer une diminution de la prévalence du spirochète chez le réservoir (via l'analyse d'une biopsie de cartilage). L'efficacité du traitement pourrait être optimisée par ce mécanisme en diminuant la transmission de la bactérie par la souris (Barbour 2016).

Dans le même ordre d'idée, aucune confirmation du traitement des souris n'a été obtenue. Pour l'instant, rien de nous permet d'affirmer que nous parvenons à traiter les souris, mis à part le fait que la ration de beurre d'arachide n'était plus présente dans les

boîtes à appâts d'une semaine à l'autre et l'apparente diminution de l'infestation, particulièrement pour certains sites. Une prise de sang effectuée sur nos micromammifères aurait pu permettre de confirmer la présence du médicament chez les souris capturées sur les terrains traités. Cette analyse supplémentaire aurait pu permettre d'évaluer la concentration plasmatique de l'isoxazoline et ainsi mesurer la couverture antiparasitaire, en plus de clarifier la consommation du traitement chez les différentes espèces. Nous avons renoncé à cette manipulation supplémentaire, car la prise de sang sur une petite souris déjà déshydratée aurait probablement été terminale. Un petit nombre de micromammifères aurait toutefois pu être sacrifié dans les zones traitées seulement afin de permettre cette analyse. L'analyse des selles des souris capturées était une avenue potentielle et moins invasive pour confirmer le traitement, les molécules d'isoxazolines étant excrétées inchangées dans les fèces (Pelletier et al. 2020). Malheureusement, l'impossibilité d'accéder au laboratoire dû à la pandémie m'a empêché d'effectuer les analyses nécessaires pour obtenir ces résultats. Pour conclure, une étude testant l'attrait présenté par différents types d'appâts oraux chez les souris sauvages a confirmé que plus de la moitié des résidents de leurs terrains traités consommait les appâts de beurre d'arachide, tel que démontré par la présence de teinture fluorescente sur leurs vibrisses. La densité d'appâts utilisés (12,5 appâts par hectare) était également inférieure à la nôtre (Telford et al. 2011).

Une autre limite de notre étude qui mérite d'être abordée est l'usage étendu de molécules antiparasitaires dans l'environnement. Les protocoles d'intervention utilisant des insecticides plus traditionnels (pyréthriinoïdes, carbamates) appliqués dans l'environnement ont déjà remarqué des changements dans la composition des arthropodes non visés (Curran et al. 1993, Llewellyn 1996, Schulze 2005). Bien que les données connues sur l'innocuité des isoxazolines utilisées soient très encourageantes, les effets d'un usage sur des micromammifères sauvages ne sont pas connus pour l'instant et bien que ces molécules aient été démontrées sécuritaires pour certaines espèces d'oiseaux domestiques (European Medical Agency 2019) leur toxicité pour les oiseaux de proie qui se nourrissent majoritairement de petits rongeurs n'a pas été évaluée. Par exemple, le sous-dosage, possible puisque la dose reçue par chaque souris n'est pas contrôlée, pourrait mener à l'apparition de résistances. Aucune évidence de telles résistances ou de résistances croisées n'est encore rapportée pour cette nouvelle classe de molécules. Toutefois, une première

tique (*Boophilus microplus*) résistante à la perméthrine a été récoltée aux États-Unis en 2007, et plusieurs autres populations de tiques ont depuis démontré des résistances envers une variété de molécules (Foil et al. 2004, Eisen et al. 2015). Il est probable que l'usage étendu d'acaricide, autant pour les animaux de compagnie que pour le bétail, exerce une pression de sélection suffisante pour favoriser l'apparition de résistance. Le surdosage, l'accumulation dans l'environnement et la bioaccumulation sont des risques qui ne pourraient qu'être étudiés à long terme. Malgré tout, ces points font que l'utilisation de ces molécules comme dans notre protocole devrait probablement être réservée à des zones à très haut risque, où l'environnement permet aussi de rentabiliser l'effet du traitement. Un fait intéressant à noter : la quantité de médicaments utilisée (basé sur la posologie recommandée) pour traiter nos terrains équivaut au traitement de 8,3 chiens de 30kg pour le sarolaner et de 3,4 chiens de 30kg pour le fluralaner, pour l'ensemble de l'été.

## **Applications et perspectives de recherche**

Les maladies vectorielles émergentes sont un enjeu d'importance au Canada. L'introduction de populations de tiques vers de nouveaux territoires peut survenir au travers des mouvements des hôtes, mais demeure dépendante d'un environnement compatible avec la survie de l'arachnide et la présence d'hôtes. Il s'ensuit qu'un réchauffement du climat en Amérique du Nord augmente le nombre de niches écologiques favorables à l'établissement de population de tiques. Plusieurs études ont d'ailleurs utilisé les données de surveillance et de température des dernières années pour modéliser l'évolution des territoires endémiques pour la maladie de Lyme (Chen et al. 2005, Ogden et al. 2008a, Bisanzio et al. 2020). De plus, la fragmentation des forêts augmente le contact de la population avec les zones les plus susceptibles de contact avec les tiques. Plusieurs études ont étudié l'effet de la fragmentation des habitats sur le risque humain de contracter la maladie de Lyme. Il semblerait que ce constat résulte du comportement de la population plutôt que de la densité de nymphes dans l'environnement. (Brownstein et al. 2005, Ogden et al. 2006, Eisen et Eisen 2016, Kilpatrick et al. 2017). En effet, la population est plus à risque de contact avec les tiques dans les quartiers résidentiels et en bordure de forêt que dans les grands territoires boisés (plus de 10 000 ha.).

Depuis 2019, l'agence de santé publique du Canada signale quatre autres maladies transmises par les tiques comme émergentes au Canada, soit l'anaplasmose, la babésiose, le virus Powassan et la maladie à *Borrelia miyamotoi*. Bien que le nombre de cas déclarés au Canada soit bien plus faible que pour la maladie de Lyme, l'impact de ces maladies vectorielles sur la santé est plus sévère. Par exemple, le virus de Powassan peut entraîner des encéphalites qui sont mortelles dans environ 10% des cas; seulement 21 cas ont toutefois été déclarés pour l'instant au Canada (gouvernement du Canada, 2021a). La fièvre récurrente causée par *Borrelia miyamotoi* est semblable à la maladie de Lyme, sans toutefois causer la rougeur en forme de cible caractéristique de *Borrelia burgdorferi*. Les rongeurs, et particulièrement les souris, sont identifiés comme le réservoir principal pour les agents de la plupart de ces maladies, entre autres *Anaplasma phagocytophilum* (responsable de l'anaplasmose), *Babesia microti* (responsable de la babésiose), certaines lignées du virus de Powassan et plusieurs espèces de *Borrelia*.

L'émergence de maladies vectorielles additionnelles souligne la polyvalence du protocole proposé dans notre étude. Si l'utilisation des isoxazolines permet de réduire la densité d'*Ixodes scapularis* dans l'environnement, l'ensemble du risque présenté par ces maladies serait réduit. Malheureusement, nos résultats ne permettent pas d'établir clairement une réduction des nymphes résidentes de nos terrains traités. De la même manière, le traitement antiparasitaire d'un des hôtes principaux de la tique permet l'atteinte de nombreuses espèces de tiques, qui peuvent être porteuses d'autres maladies. Par exemple, l'agent responsable de la tularémie, la bactérie *Francisella tularensis*, est maintenu dans l'environnement par les rongeurs qui agissent comme réservoir, et peut également être transmise aux humains par une tique porteuse, soit *Dermacentor variabilis*, *Dermacentor andersoni* et *Amblyomma americanum* en Amérique du Nord (Zeller et Huntley 2019, CDC 2020b). L'émergence de plusieurs autres espèces de tiques est bien réelle au Canada de même qu'au Québec (Springer et al. 2015, Bouchard et al. 2019). D'ailleurs, une étude s'est penchée sur les espèces de tiques transmises par la surveillance passive au Québec entre 2007 et 2015 : 12 espèces de tiques, autre qu'*Ixodes scapularis*, ont été identifiées. Vingt-deux tiques *Amblyomma americanum*, appelées la *lone-star tick*, ont été soumises par des personnes s'étant fait piquer pendant ces années (Gasmi et al. 2018). Cette espèce de tique, plus fréquente dans le sud des États-Unis, est plus agressive



qu'*Ixodes* dans sa recherche d'hôtes et est porteuse de maladies graves, dont les agents responsables de l'erylichiose et de la tularémie (CDC 2021).

En plus de l'application d'insecticides aux rongeurs déjà discutée dans cet ouvrage, d'autres avenues de traitement du réservoir principal de *Borrelia*, la souris à pattes blanches, ont été tentées. Par exemple, une étude effectuée en laboratoire s'est penchée sur l'immunisation de ces rongeurs grâce à l'inoculation de la protéine OspA, une protéine produite par le spirochète. Cette technique s'est avérée très efficace pour prévenir l'infection des souris suite à l'infestation par des nymphes infectées par *Borrelia* (Wang et al. 2016). Malgré tout, cette étude visait davantage à servir de recherche préliminaire pour l'utilisation de ce vaccin chez l'humain puisque l'immunisation de souris sauvage de cette manière serait fastidieuse et irréalisable sur de grands territoires. D'ailleurs, la vaccination de rongeurs sauvages à l'aide d'un vaccin recombinant contre la protéine OspA peut s'avérer très efficace, mais nécessite une fois de plus la capture des rongeurs et leur traitement individuel (Tsao et al. 2004). La formulation d'un vaccin oral fut une percée prometteuse pour les méthodes de prévention visant le réservoir *Peromyscus*. Plus faciles à distribuer dans l'environnement, ces protocoles ont démontré des résultats satisfaisants, comme l'étude de Richer *et al.* qui est parvenue à réduire l'infection des nymphes de 76% après 5 années de traitement (Scheckelhoff et al. 2006, Richer et al. 2011, Richer et al. 2014). Il est par contre intéressant de mentionner que contrairement à la vaccination, les protocoles antiparasitaires sont plus polyvalents pour réduire le risque associé aux nombreuses maladies vectorielles, car visant à réduire directement la densité de tiques.

## Conclusion

Ce projet de recherche visait à réduire le risque humain de maladie de Lyme en traitant le réservoir principal pour *Borrelia*, *Peromyscus leucopus*, à l'aide d'antiparasitaire de la famille des isoxazolines. Nos objectifs étaient d'évaluer l'efficacité du traitement à réduire l'infestation des souris et, dans un deuxième temps, la capacité du protocole à diminuer la densité de nymphes en recherche active d'hôte sur les terrains traités. Plusieurs variables biotiques (type de forêts, biodiversité des hôtes) et abiotiques (température, humidité) ont également été mesurées afin d'évaluer leur impact sur le traitement.

Les résultats obtenus n'ont malheureusement pas permis de détecter une différence significative au niveau du nombre de nymphes actives dans l'environnement. Par contre, l'efficacité du traitement pour réduire l'infestation des rongeurs est prometteuse, et justifierait la mise en place de protocole optimisé. Les études à venir pourraient viser le traitement des micromammifères sur toute la période d'activité des larves, tout en permettant l'observation de l'impact cumulatif du traitement sur la population de tiques au travers de nombreuses années de traitement. L'extension des régions endémiques pour la maladie de Lyme ainsi que la menace des autres maladies vectorielles au Canada motive la recherche de moyen efficace et ciblé pour se protéger de ces maladies vectorielles.

## Références

Adam-Poupart A., Briand S., Ouhoumanne N., Ripoche M. (2019). *Consensus d'experts sur la définition de zone endémique et sur les critères des niveaux de risque d'acquisition de la maladie de Lyme au Québec*. Institut National de Santé Publique du Québec. [https://www.inspq.qc.ca/sites/default/files/publications/2567\\_consensus\\_definition\\_zone\\_endemique\\_aquisition\\_maladie\\_lyme.pdf](https://www.inspq.qc.ca/sites/default/files/publications/2567_consensus_definition_zone_endemique_aquisition_maladie_lyme.pdf)

Anderson J. F. (2002). The natural history of ticks. *Medical Clinics of North America* 86. Mar;86(2):205-18. doi: 10.1016/s0025-7125(03)00083-x.

Anderson J. F., Magnarelli L.A. (2008). Biology of ticks. *Infectious Disease Clinics of North America*. 22:195- 215

Anguita J., Hedick M. N., Fikrig E. (2003). Adaptation of *Borrelia burgdorferi* in the Tick and Mammalian Host. *FEMS Microbiology Reviews*, 27 (4), 493–504. doi :10.1016/S0168-6445(03)00036-6

Anon. (2011). 6 Parasite Aggregation: Causes and Consequences. *Evolutionary Ecology of Parasites*, Princeton: Princeton University Press, pp. 134-159. <https://doi.org/10.1515/9781400840809.134>

Arguez, A. (2019). *Bitterly cold extremes on a warming planet: Putting the Midwest's late January record cold in perspective*. Climate.gov. <https://www.climate.gov/news-features/blogs/beyond-data/bitterly-cold-extremes-warming-planet-putting-midwest%E2%80%99s-late-january>

Artsob H., Garvie M., Cawthorn R.J., Horney B., Maloney R., Dick D., Mcburney S. (1992). Isolation of the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*, from *Ixodes dammini* (Acari, Ixodidae) collected on Prince-Edward Island, Canada. *Journal of Medical Entomology*, 29(6), 1063-1066.

Bachmanov A. A., Reed D. R., Beauchamp G. K., Tordoff, M. G. (2002). Food intake, water intake, and drinking spout side preference of 28 mouse strains. *Behavior genetics*, 32(6), 435–443. <https://doi.org/10.1023/a:1020884312053>

Baranton G., Assous M., Postic D. (1992). Three bacterial species associated with Lyme borreliosis. Clinical and diagnostic implications. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, 176:1075–1086

Barbour A. G. (2017). Infection resistance and tolerance in *Peromyscus* spp., natural reservoirs of microbes that are virulent for humans. *Seminars in cell & developmental biology*, 61, 115–122. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2016.07.002>

Belozerov V.N., Naumov R.L. (2002). Nymphal diapause and its photo-periodic control in the tick *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) *Folia Parasitology*, 49:314–318.

Belozerov V.N., Fourie L.J., Kok D.J. (2002). Photoperiodic control of developmental diapause in nymphs of prostriate ixodid ticks (Acari: Ixodidae) *Experimental and Applied Acarology*; 28:163–168.

Benhnia M.R., Wroblewski D., Akhtar MN. (2005). Signaling through CD14 attenuates the inflammatory response to *Borrelia burgdoferi*, the Agent of Lyme Disease. *Journal of Immunology*, 174(3), 1539-154.

Berger K.A., Ginsberg H.S., Dugas K.D., Hamel L.H., Mather T.N. (2014b). Adverse moisture events predict seasonal abundance of Lyme disease vector ticks (*Ixodes scapularis*) *Parasites Vectors*, 7:181.

Bisanzio D., Fernández M.P., Martello E., Reithinger R., Diuk-Wasser M.A. (2020) Current and Future Spatiotemporal Patterns of Lyme Disease Reporting in the Northeastern United States. *JAMA Netw Open*, 3(3):e200319. doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.0319

Bollegraaf E. (1988). Lyme disease in Canada. *Canadian Medical Association. J.*, 139, 233-234.

Bouchard C. (2013). *Éco-épidémiologie de la maladie de Lyme dans le Sud-Ouest du Québec: étude des facteurs environnementaux associés à son établissement* (Thèse de doctorat, Université de Montréal), <https://papyrus.bib.umontreal.ca/xmlui/handle/1866/10507>

Bouchard C., Dibernardo A., Koffi J., Wood H., Leighton PA., Lindsay LR. (2019). Augmentation du risque de maladies transmises par des tiques en raison des changements climatiques et environnementaux. *Relevé des maladies transmissibles au Canada*, 45(4):89–98.

Bravecto (fluralaner) chew or topical solution: for dogs. (2020). Bravecto. <https://us.bravecto.com/for-dogs>

Briciu V.T., Flonta M., Țățulescu DF., Meyer F., Sebah D., Cârștina D., Mihalca AD., Gherman CM., Hizo-Teufel C., Huber I., Fingerle V., Lupșe M. (2017). Clinical and serological one-year follow-up of patients after the bite of *Ixodes ricinus* ticks infected with *Borrelia*

burgdorferi sensu lato. *Infectious Diseases London: England*, 49(4), 277-285. doi: 10.1080/23744235.2016.1258488.

Brisson D., Dykhuizen D. E., Ostfeld R. S. (2007). Conspicuous impacts of inconspicuous hosts on the Lyme disease epidemic. *Proceedings. Biological sciences*, 275(1631), 227–235. <https://doi.org/10.1098/rspb.2007.1208>

Brownstein J. S., Holford T. R., Fish D. (2005). Effect of Climate Change on Lyme Disease Risk in North America. *EcoHealth*, 2(1), 38–46. <https://doi.org/10.1007/s10393-004-0139-x>

Brunner J.L, LoGiudice K. Ostfeld R.S. (2008). Estimating Reservoir Competence of *Borrelia burgdorferi* Hosts: Prevalence and Infectivity, Sensitivity, and Specificity, *Journal of Medical Entomology*, 45;1, 139–147, <https://doi.org/10.1093/jmedent/45.1.139>

Buczek A. M., Buczek W., Buczek A., Bartosik K. (2020). The Potential Role of Migratory Birds in the Rapid Spread of Ticks and Tick-Borne Pathogens in the Changing Climatic and Environmental Conditions in Europe. *International journal of environmental research and public health*, 17(6), 2117. <https://doi.org/10.3390/ijerph17062117>

Burgess EC. (1992). Experimentally induced infection of cats with *Borrelia burgdorferi*. *American Journal of Veterinary Research*, 53:1507–1511.

California Department of Public Health. (2020). *Testing ticks for Borrelia burgdorferi, the Agent of Lyme Disease: Questions and Answers*. <https://www.cdph.ca.gov/Programs/CID/DCDC/CDPH%20Document%20Library/TickTestingQA.pdf>

Canadian Wildlife Health Center. (2018). *Lyme Disease*. [http://www.cwhc-rcsf.ca/docs/fact\\_sheets/Lyme\\_Disease.pdf](http://www.cwhc-rcsf.ca/docs/fact_sheets/Lyme_Disease.pdf)

Casher L., Lane R., Barrett R., Eisen L. (2002). Relative importance of lizards and mammals as hosts for ixodid ticks in northern California. *Experimental Applied Acarology*, 26:127–143

Centers for Disease Control and Prevention. (2019). *Post-Treatment Lyme Disease Syndrome*. <https://www.cdc.gov/lyme/postlds/index.html>

Centers for Disease Control and Prevention. (2020a). *Lyme Disease Transmission*. <https://www.cdc.gov/lyme/transmission/index.html>

Centers for Disease Control and Prevention. (2020b). *Tularemia*. <https://www.cdc.gov/tularemia/transmission/index.html#:~:text=In%20the%20United%20States%2C%20ticks,in%20the%20western%20United%20States>.

Center for Disease Control and Prevention. (2021). *Tickborne Diseases of the United States*. <https://www.cdc.gov/ticks/tickbornediseases/tickID.html>

Charon N.W., Cockburn A., Li C., Liu J., Miller KA., Miller MR., Motaleb MA., Wolgemuth CW. (2012). The unique paradigm of spirochete motility and chemotaxis. *Annual Review of Microbiology*, 66:349-70. doi: 10.1146/annurev-micro-092611-150145.

Chen H., White DJ., Caraco TB., Stratton HH. (2005). Epidemic and spatial dynamics of Lyme disease in New York State, 1990–2000. *Journal of Medical Entomology*, 42:899–08.

Clark KL., Oliver JH. Jr, Grego JM., James AM., Durden LA., Banks CW. (2001). Host associations of ticks parasitizing rodents at *Borrelia burgdorferi* enzootic sites in South Carolina. *Journal of Parasitology*, 87(6):1379-1386. doi:10.1645/0022-3395(2001)

Clark R. P., Hu L. T. (2008). Prevention of lyme disease and other tick-borne infections. *Infectious disease clinics of North America*, 22(3), 381–vii. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2008.03.007>

Curran KL., Fish D., Piesman J. (1993). Reduction of nymphal *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) in a residential suburban landscape by area application of insecticides. *Journal of Medical Entomology*, 30(1):107-113. doi:10.1093/jmedent/30.1.107

Curtis P. D., Walker S. M., Gilrein D. O. (2011). Shelter Island and Fire Island 4-poster deer and tick study: final report, p. 113(excluding Appendices). Cornell University & Cornell Cooperative Extension, Ithaca, NY.

CVMP assessment report for Bravecto (EMEA/V/C002526/0000). (2014). European Medicines Agency. London (GB); [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_Public\\_assessment\\_report/veterinary/002526/WC500163860.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_Public_assessment_report/veterinary/002526/WC500163860.pdf)

CVMP assessment report for Simparica (EMEA/V/C/003991/0000). (2015). European Medicines Agency. London (GB); [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_Public\\_assessment\\_report/veterinary/003991/WC500199084.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_Public_assessment_report/veterinary/003991/WC500199084.pdf)

Daltroy L. H., Phillips C., Lew R., Wright E., Shadick N. A., Liang M. H. (2007). A Controlled Trial of a Novel Primary Prevention Program for Lyme Disease and Other Tick-Borne Illnesses. *Health Education & Behavior*, 34(3), 531–542. <https://doi.org/10.1177/1090198106294646>

Davies B., Morris T. (1993). Physiological parameters in laboratory animals and humans. *Pharmaceutical research*, vol. 10. New York: Kluwer Academic Publishers-Plenum Publisher; p. 1093–5.

Deblinger RD., Rimmer DW. (1991). Efficacy of permethrin-based acaricide to reduce the abundance of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, 28(5), 708-711, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1941940>

Donahue J.G., Piesman J., Spielman A. (1987). Reservoir competence of white footed mice for Lyme disease spirochetes. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 36:92-96.

Eiden AL., Kaufman PE., Oi FM., Allan SA., Miller RJ. (2015). Detection of Permethrin Resistance and Fipronil Tolerance in *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the United States. *Journal of Medical Entomology*, 52(3):429-36. doi: 10.1093/jme/tjv005.

Eisen R. J., Eisen L., Ogden N. H., Beard C. B. (2016). Linkages of Weather and Climate with *Ixodes scapularis* and *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae), Enzootic Transmission of *Borrelia burgdorferi*, and Lyme Disease in North America. *Journal of medical entomology*, 53(2), 250–261. <https://doi.org/10.1093/jme/tjv199>

Eisen RJ., Kugeler KJ., Eisen L., Beard CB., Paddock CD. (2017). Tick-borne zoonoses in the United States: Persistent and emerging threats to human health. *Institute of Laboratory Animal Research Journal*, 58 doi: 10.1093/ilar/ilx005.

Elias S., Witham J., Hunter M. (2004). *Peromyscus leucopus* Abundance and Acorn Mast: Population Fluctuation Patterns over 20 Years. *Journal of Mammalogy*, 85. 743-747. 10.1644/BER-025.

European Medicine Agency. (2017). *Annexe 1 : résumé des caractéristiques du produit* (Simparica, Sarolaner). [http://www.ema.europa.eu/docs/fr\\_FR/document\\_library/EPARProduct\\_Information/veterinary/003991/WC500199082.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/fr_FR/document_library/EPARProduct_Information/veterinary/003991/WC500199082.pdf)

Exzolt, INN-Fluralaner. (2017). *Summary of product characteristics*. European Medicines Agency. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/exzolt-epar-public-assessment-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/exzolt-epar-public-assessment-report_en.pdf)

Faust C. L., Dobson A. P., Gottdenker N., Bloomfield L., McCallum H. I., Gillespie T. R., Diuk-Wasser M., Plowright R. K. (2017). Null expectations for disease dynamics in shrinking habitat: dilution or amplification? *Philosophical transactions of the Royal Society of London, Series B, Biological sciences*, 372(1722), 20160173. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0173>

Fisara P., Webster M. A. (2015). Randomized controlled trial of the efficacy of orally administered fluralaner (Bravecto™) against induced Ixodes holocyclus (Australian paralysis tick) infestations on dogs. *Parasites Vectors* 8, 257. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0864-8>

Foil LD., Coleman P., Eisler M., Fragoso-Sanchez H., Garcia-Vazquez Z., Guerrero FD., Jonsson NN., Langstaff IG., Li AY., Machila N., Miller R.J., Morton J., Pruett J.H., Torr S. (2004). Factors that influence the prevalence of acaricide resistance and tick-borne diseases. *Veterinary Parasitology*, Oct 28;125(1-2):163-81. doi: 10.1016/j.vetpar.2004.05.012. PMID: 15476966.

Fryland L., Wilhelmsson P., Lindgren PE., Nyman D., Ekerfelt C., Forsberg P. (2011). Low risk of developing *Borrelia burgdorferi* infection in the south-east of Sweden after being bitten by a *Borrelia burgdorferi*-infected tick. *International Journal of Infectious Diseases*, 15(3) 174-181, doi: 10.1016/j.ijid.2010.10.006.

Gasmi S., Bouchard C., Ogden NH., Adam-Poupart A., Pelcat Y., Rees EE., Milord F., Leighton PA., Lindsay RL., Koffi JK., Thivierge K. (2018). Evidence for increasing densities and geographic ranges of tick species of public health significance other than *Ixodes scapularis* in Québec, Canada. *PLoS One*. Aug 22;13(8):e0201924. doi: 10.1371/journal.pone.0201924.

Gassel M., Wolf C., Noack S., Williams H., Ilg T. (2014). The novel isoxazoline ectoparasiticide fluralaner: selective inhibition of arthropod  $\gamma$ -aminobutyric acid- and L-glutamate-gated chloride channels and insecticidal/acaricidal activity. *Insect biochemistry and molecular biology*, 45, 111–124. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2013.11.009>

Gatewood AG., Liebman KA., Vourc'h G., et al. (2009). Climate and tick seasonality are predictors of *Borrelia burgdorferi* genotype distribution. *Applied Environmental Microbiology*, 75(8):2476-2483. doi:10.1128/AEM.02633-08



Ginsberg H.S., E. Zhioua. (1996). Nymphal survival and habitat distribution of *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* ticks (Acari: Ixodidae) on Fire Island, New York, USA. *Experimental and Applied Acarology*, 20:533-544.

Ginsberg H. S., Buckley P.A., Blamforth M.G., Zhioua E., Mitra S., Buckley F. (2005). Reservoir competence of native north American birds for the Lyme Disease Spirochete, *Borrelia burgdorferi*. *Journal of Medical Entomology*, 42 (3): 445-449

Gleim E.R., Zemtsova G.E., Berghaus R.D. et al. (2019). Frequent Prescribed Fires Can Reduce Risk of Tick-borne Diseases. *Scientific Reports*, 9, 9974. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46377-4>

Glery S., Ostfeld R. (2007). The Role of Lizards in the Ecology of Lyme Disease in Two Endemic Zones of the Northeastern United States. *The Journal of Parasitology*, 93(3), 511-517, [www.jstor.org/stable/40058777](http://www.jstor.org/stable/40058777)

Godsey M. S., Amundson T. E., Burgess E. C., Schell W., Davis J. P., Kaslow R., Edelman R. (1987). Lyme disease ecology in Wisconsin - distribution and host preferences of *Ixodes dammini*, and prevalence of antibody to *Borrelia burgdorferi* in small mammals. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 37: 180-187.

Gouvernement du Canada. (2017). *Maladie de Lyme*. <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/maladies/maladie-lyme/symptomes-maladie-lyme.html>

Gouvernement du Canada. (2020a). *Risk of Lyme Disease to Canadians*. <https://www.canada.ca/en/public-health/services/diseases/lyme-disease/risk-lyme-disease.html>

Gouvernement du Canada. (2020b). *Prévention de la maladie de Lyme*. <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/maladies/maladie-lyme/prevention-maladie-lyme.html>

Gouvernement du Canada. (2021a). *Fiche technique Santé-Sécurité : Agents pathogènes- Virus de l'encéphalite de Powassan*. <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/biosecurite-biosurete-laboratoire/fiches-techniques-sante-securite-agents-pathogenes-evaluation-risques/virus-encephalite-powassan.html>

Gouvernement du Canada. (2021b). *Définition nationale de cas : Maladie de Lyme*. <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/maladies/maladie-lyme/pour-professionnels-sante-maladie-lyme/definition-nationale-cas.html>

Gouvernement du Québec. (2020). *Maladie de Lyme*. <https://www.quebec.ca/sante/problemes-de-sante/a-z/maladie-de-lyme/>

Grear J. S., Koethe R., Hoskins B., Hillger R., Dapsis L., Pongsiri M. (2014). The effectiveness of permethrin-treated deer stations for control of the Lyme disease vector *Ixodes scapularis* on Cape Cod and the islands: a five-year experiment. *Parasites Vectors*. 7: 292

Gross L. (2006). A new view on Lyme disease: rodents hold the key to annual risk. *PLoS biology*, 4(6), e182. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040182>

Guerra M., Walker E. D., Jones C., Paskewitz S., Cortinas M. R., Stancil A., Kitron U. (2002). Predicting the Risk of Lyme Disease: Habitat Suitability for *Ixodes scapularis* in the North Central United States. *Emerging Infectious Diseases*, 8(3), 289-297. <https://dx.doi.org/10.3201/eid0803.010166>

Han B.A., Schmidt J.P., Bowden S.E., Drake J.M. (2015). Rodent reservoirs of future zoonotic diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112 (22) 7039-7044; doi: 10.1073/pnas.1501598112

Harkins K. M., Keinath D., Ben-David M. (2019). It's a trap: Optimizing detection of rare small mammals. *PLoS one*, 14(3), e0213201. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213201>

Health Canada. (1991). *Consensus conference on Lyme disease*. Laboratory Centre for Disease Control. Canada Communicable Disease Report 17:63–70. <https://www.quebec.ca/en/health/health-issues/a-z/lyme-disease/>

Heuer V. (2009). *Lyme Disease in Cats*. PetMD. [https://www.petmd.com/cat/conditions/infectious-parasitic/c\\_ct\\_lyme\\_disease](https://www.petmd.com/cat/conditions/infectious-parasitic/c_ct_lyme_disease)

Hofhuis A., Van de Kasstele J., Sprong H., Van den Wijngaard C., Harms M.G., Fonville M., Docters van Leeuwen A., Simoes M., Van Pelt W. (2017). Predicting the risk of Lyme borreliosis after a tick bite, using a structural equation model. *PLoS One* 12(7). doi: 10.1371/journal.pone.0181807

Horak I. G., Gallivan G. J., Spickett A. M., Potgieter A. L. F. (2006). Effect of burning on the numbers of questing ticks collected by dragging. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 73:163–174.

Hornbostel VL., Ostfeld RS., Zhioua E., Benjamin MA. (2004). Sublethal effects of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes) on engorged larval, nymphal, and adult *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, 41: 922-929.

Institut national de Santé Publique du Québec. (2014). Identification des arthropodes d'importance médicale. [Document inédit]

Institut de recherche en Santé du Canada. (2019). *La maladie de Lyme*. <https://cihr-irsc.gc.ca/f/51541.html>

Johnson T. L., Bjork J. K., Neitzel D. F., Dorr F. M., Schiffman E. K., Eisen R. J. (2016). Habitat Suitability Model for the Distribution of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in Minnesota. *Journal of medical entomology*, 53(3), 598–606. <https://doi.org/10.1093/jme/tjw008f>

Kalish RA., Kaplan RF., Taylor E., Jones-Woodward L., Workman K., Steere AC. (2001). Evaluation of study patients with Lyme disease, 10-20-year follow-up. *Journal of Infectious Diseases*, 183(3):453-460. doi:10.1086/318082

Kazmierczak J.J., Amundson T.E., Burgess E.C. (1988). Borreliosis in free-ranging black bears from Wisconsin. *Journal of Wildlife Diseases*, 24:366-368.

Keesing F., Holt R.D., Ostfeld R.S. (2006). Effects of species diversity on disease risk. *Ecology Letters*, 9: 485-498. doi:10.1111/j.1461-0248.2006.00885.x

Keesing F., Brunner J, Duerr S, et al. (2009). Hosts as ecological traps for the vector of Lyme disease. *Proceedings of Biological Sciences*, 276(1675):3911-3919. doi:10.1098/rspb.2009.1159

Kilp S., Ramirez D., Allan MJ., Roepke RKA, Nuernberger MC. (2014). Pharmacokinetics of fluralaner in dogs following a single oral or intravenous administration. *Parasites and Vectors*, 7:85.

Kiszewski A. E., Matuschka F. R. Spielman A. (2001). Mating strategies and spermiogenesis in Ixodid ticks. *Annual Review of Entomology*, 46: 167-182

Krupka I., Straubinger RK. (2010). Lyme borreliosis in dogs and cats: background, diagnosis, treatment and prevention of infections with *Borrelia burgdorferi sensu stricto*. *Veterinary Clinic of North America Small Animal Practices*, 40:1103–1119.

Kurtenbach K., Sewell H., Ogden N.H., Randolph S.E., Nuttal P.A. (1998). Serum complement sensitivity as a key factor in Lyme disease ecology. *Infection and Immunity*, 66:1248-1251.

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

Lavy SA., Magnarelli LA. (1992). Relationship between development of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in dogs and the subsequent development of limb/joint borreliosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 200 (3) 344-347

Leighton PA., Koffi JK., Pelcat Y., Lindsay LR., Ogden NH. (2012). Predicting the speed of tick invasion: an empirical model of range expansion for the Lyme disease vector *Ixodes scapularis* in Canada. *Journal of Applied Ecology*, 49:457–464.

Lindsay LR., Barker IK., Surgeoner GA., McEwen SA., Gillespie TJ., Robinson JT. (1995). Survival and development of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) under various climatic conditions in Ontario, Canada. *Journal of Medical Entomology*, 32:143–152.

Lindsay L.R., Barker I.K., Surgeoner G.A., McEwan S.A., Campbell G.D. (1997). Duration of *Borrelia burgdorferi* infectivity in white-footed mice for the tick vector *Ixodes scapularis* under laboratory and field conditions in Ontario. *Journal of Wildlife Diseases*, 33:766-75

Lindsay LR., Barker IK., Surgeoner GA., McEwen SA., Gillespie TJ., Addison EM. (1998). Survival and development of the different life stages of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) held within four habitats on Long Point, Ontario, Canada. *Journal of Medical Entomology*, 35:189–199.

Lindsay L.R., Mathison S.W., Barker I.K., McEwen S.A., Gillespie T.J., Surgeoner G.A. (1999). Microclimate and Habitat in Relation to *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) Populations on Long Point, Ontario, Canada. *Journal of Medical Entomology*, 36; 3, 1, 255–262, <https://doi.org/10.1093/jmedent/36.3.255>

Linske M. A., Stafford K. C., 3rd, Williams S. C., Lubelczyk C. B., Welch M., Henderson E. F. (2019). Impacts of Deciduous Leaf Litter and Snow Presence on Nymphal *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) Overwintering Survival in Coastal New England, USA. *Insects*, 10(8), 227. <https://doi.org/10.3390/insects10080227>

Littman MP., Gerber B., Goldstein RE., Labato MA., Lappin MR., Moore GE. (2018). ACVIM consensus update on Lyme borreliosis in dogs and cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32: 887– 903. <https://doi.org/10.1111/jvim.15085>

Llewellyn DM., Brazier A., Brown R. et al. (1996). Occupational exposure to permethrin during its use as a public hygiene insecticide. *Annals of Occupational Hygiene*, 40(5):499-509.

LoGiudice K., Ostfeld K., Schmidt K.A., Keesing F. (2003). The ecology of infectious disease: Effects of host diversity and community composition on Lyme disease risk, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100 (2) 567-571; doi: 10.1073/pnas.0233733100

Lord C.C. (1995). Seasonal activity of nymphal *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in different habitats in New Jersey. *Journal of Medical Entomology*, 32: 66-70.

MacDonald A.H., David M., O'connor A., Swei K., Briggs A., Macdonald C., Hyon C. (2018). Risk of vector tick exposure initially increases, then declines through time in response to wildfire in California. *Ecosphere*, 9. doi: 10.1002/ecs2.2227.

Madhav N.K., Brownstein J.S., Tsao J.I., Fish D. (2004). A Dispersal Model for the Range Expansion of Blacklegged Tick (Acari: Ixodidae), *Journal of Medical Entomology*, 41, 5, 842–852, <https://doi.org/10.1603/0022-2585-41.5.842>

Magnarelli L. A., Anderson J. F., Apperson C. S., Fish D., Johnson R. C., Chappell W. A. (1986). Spirochetes in ticks and antibodies to *Borrelia burgdorferi* in white-tailed deer from Connecticut, New York State, and North Carolina. *Journal of Wildlife Diseases*, 22: 178-188.

Malouin R., Winch P., Leontsini E., Glass G., Simon D., Hayes E. B., Schwartz B. S. (2003). Longitudinal evaluation of an educational intervention for preventing tick bites in an area with endemic lyme disease in Baltimore County, Maryland. *American journal of Epidemiology*, 157(11), 1039–1051. <https://doi.org/10.1093/aje/kwg076>

MAPAQ. 2017. *Maladie de Lyme*. <https://www.mapaq.gouv.qc.ca/fr/Productions/santeanimale/maladies/transmissibleshumain/Pages/MaladieLyme.aspx>

Martin AJ., Aprance HE., Dloter KO., Brown SE. (1981). *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) on white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) in Connecticut. *Journal of Medical Entomology*, 18:487–492.

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

McCabe G.J., Bunnell J.E. (2004). Precipitation and the occurrence of Lyme disease in the northeastern United States. *Vector-borne and Zoonotic Diseases*, 4:143-148

McCoy K. D., Léger E., Dietrich M. (2013). Host specialization in ticks and transmission of tick-borne diseases: a review. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 3, 57. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2013.00057>

McTier TL., Chubb N., Curtis MP., Hedges L., Inskip GA., Knauer CS., Menon S., Mills B., Pullins A., Zinser E., Woods DJ., Meeus P. (2016). Discovery of sarolaner: A novel, orally administered, broad-spectrum, isoxazoline ectoparasiticide for dogs. *Veterinary Parasitology*, 222:3-11. doi: 10.1016/j.vetpar.2016.02.019.

Miller R. J., Davey R. B., George J. E. (2007). First report of permethrin-resistant *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) collected within the United States. *Journal of medical entomology*, 44(2), 308–315. [https://doi.org/10.1603/0022-2585\(2007\)44\[308:fropbm\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1603/0022-2585(2007)44[308:fropbm]2.0.co;2)

Mladenovic J., Cekanac R., Stajkovic N., Krstic M. (2010). Risk of Lyme disease development after a tick bite. *Vojnosanitetski Pregled*, 67(5), 369-374 doi:10.2298/vsp1005369m

Morshed M.G., Scott J.D., Fernando K., Geddes G., McNabb A., Mak S., Durden L.A. (2006). Distribution and characterization of *Borrelia burgdorferi* isolates from *Ixodes scapularis* and presence in mammalian hosts in Ontario, Canada. *Journal of Medical Entomology*, 43:762-773.

National Institute of Allergy and Infectious Diseases. (2021). Lyme Disease Co-Infection. <https://www.niaid.nih.gov/diseases-conditions/lyme-disease-co-infection>

Nigrovic L. E., Thompson K. M. (2007). The Lyme vaccine: a cautionary tale. *Epidemiology and infection*, 135(1), 1–8. <https://doi.org/10.1017/S0950268806007096>

Nuttall P. A., Labuda M. (2003). Dynamics of infection in tick vectors and at the tick-host interface. *Flaviviruses: Pathogenesis and Immunity*, 60: 233-272

Ogden N.H., Lindsay L.R., Beauchamp G., Charron D., Maarouf A., O'Callaghan C.J., Waltner-Toews D., Barker I.K. (2004). Investigation of Relationships Between Temperature and Developmental Rates of Tick *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in the Laboratory and Field, *Journal of Medical Entomology*, 41; 4, 622–633, <https://doi.org/10.1603/0022-2585-41.4.622>

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

Ogden N.H., Maarouf A., Barker I.K., Bigras-Poulin M., Lindsay L.R., Morshed M.G., Charron D.F. (2006). Climate change and the potential for range expansion of the Lyme disease vector *Ixodes Scapularis* in Canada. *International Journal for Parasitology*, 36 (1), 63-70.

Ogden N.H., Lindsay L.R., Hanincová K., Barker I.K., Bigras-Poulin M., Charron D.F., Heagy A., Francis C.M., O'Callaghan C.J., Schwartz I., Thompson R.A. (2008a). Risk maps for range expansion of the Lyme disease vector, *Ixodes scapularis*, in Canada now and with climate change. *International Journal of Health Geographics*, 7(24).

Ogden N. H., Artsob H., Lindsay L. R., Sockett P. N. (2008b). Lyme disease: A zoonotic disease of increasing importance to Canadians. *Canadian Family, Physicians*, 54: 1381-1384.

Ogden N.H., Lindsay L.R., Hanincová K., Barker I.K., Bigras-Poulin M., Charron D. F., Heagy A., Francis C.M., O'Callaghan C. J., Schwartz I., Thompson R. A. (2008c). Role of Migratory Birds in Introduction and Range Expansion of *Ixodes scapularis* Ticks and of *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum* in Canada. *Applied and Environmental Microbiology*, 74 (6) 1780-1790. doi: 10.1128/AEM.01982-07

Ogden N.H., Lindsay L.R., Morshed M., Sockett P.N., Artsob H. (2009a). The emergence of Lyme disease in Canada. *Canadian Medical Association Journal*, 180:1221–1224.

Ogden N. H., Tsao J. I. (2009b). Biodiversity and Lyme disease: dilution or amplification? *Epidemics*, 1:196–206.

Ogden N. H., Bouchard C., Kurtenbach K., Margos G., Lindsay L. R., Trudel L., Nguon S., Milord F. (2010). Active and passive surveillance and phylogenetic analysis of *Borrelia burgdorferi* elucidate the process of Lyme disease risk emergence in Canada. *Environmental health perspectives*, 118(7), 909–914. <https://doi.org/10.1289/ehp.0901766>

Ogden N. H., Radojevic M., Wu X., Duvvuri V. R., Leighton P. A., Wu J. (2014). Estimated effects of projected climate change on the basic reproductive number of the Lyme disease vector *Ixodes scapularis*. *Environmental health perspectives*, 122(6), 631–638. <https://doi.org/10.1289/ehp.1307799>

Ogden NH., Bouchard C., Badcock J. et al. (2019). What is the real number of Lyme disease cases in Canada? *BMC Public Health.*, 19(1):849. doi:10.1186/s12889-019-7219-x

Oliver JH. Jr. (1989). Lyme disease: tick vectors, distribution, and reservoir hosts. *Journal Medical Association Georgia*. 78:675–678.

Ontario Ministry of Health and Long-term Care. (2010). *Lyme disease is on the increase: Message from the Chief Medical Officer of Health*. Queen's Printer for Ontario, Toronto, Ontario. <https://www.peelregion.ca/health/professionals/pdfs/lyme-disease-vol3-no12.pdf>

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

Ostfeld R.S., Schaubert E.M., Canham C.D., Keesing F., Jones C.G., Wolff J.O. (2001). Effects of acorn production and mouse abundance on abundance and *Borrelia burgdorferi* infection prevalence of nymphal *Ixodes scapularis* ticks. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 1:55-63.

Ostfeld R.S., Price A., Hornbostel V.L., Benjamin M.A., Keesing F. (2006a). Controlling Ticks and Tick-borne Zoonoses with Biological and Chemical Agents, *BioScience*, 56 (5), 383–394, [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2006\)056\[0383:CTATZW\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2006)056[0383:CTATZW]2.0.CO;2)

Ostfeld RS., Canham CD., Oggenfuss K., Winchcombe RJ., Keesing F. (2006b). Climate, deer, rodents, and acorns as determinants of variation in Lyme-disease risk. *PLoS Biol.*, 4:1058–1068.

Ostfeld R., Keesing F. (2012). Effects of Host Diversity on Infectious Disease. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*. 43. 157-182. 10.1146/annurev-ecolsys-102710-145022.

Padgett K. A., Casher L. E., Stephens S. L., Lane R. S. (2009). Effect of prescribed fire for tick control in California chaparral. *Journal of Medical Entomology*, 46, 1138–1145



Parker JL., White KK. (1992). Lyme Borreliosis in Cattle and Horses: a Review of the Literature. *The Cornell Veterinarian*, 82 (1) <https://babel.hathitrust.org/cgi/pt?id=coo.31924062891787&view=1up&seq=265>

Pelletier J., Rocheleau J. P., Aenishaenslin C., Beaudry F., Dimitri Masson G., Lindsay L. R., Ogden N. H., Bouchard C., Leighton P. A. (2020). Evaluation of fluralaner as an oral acaricide to reduce tick infestation in a wild rodent reservoir of Lyme disease. *Parasites & vectors*, 13(1), 73. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-3932-7>

Piedmonte N.P., Shaw S.B., Prusinski M.A, Fierke M.K. (2018). Landscape Features Associated With Blacklegged Tick (Acari: Ixodidae) Density and Tick-Borne Pathogen Prevalence at Multiple Spatial Scales in Central New York State, *Journal of Medical Entomology*, 55, 6, 1496–1508, <https://doi.org/10.1093/jme/tjy111>

Piesman J., Gern L. (2005). Lyme Borreliosis in Europe and North America. *Parasitology*, 129 (S1), 191-220. doi: 10.1017 : S0031182003004694

Postic D., Assous M. V., Grimont P. A., Baranton G. (1994). Diversity of *Borrelia burgdorferi* sensu lato evidenced by restriction fragment length polymorphism of rrf (5S)-rrl (23S) intergenic spacer amplicons. *International Journal of Systematic and Evolutionary Bacteriology*. 44: 743-752

Prohaczik A., Menge C. et al. (2017). Safety of fluralaner oral solution, a novel systemic antiparasitic treatment for chickens, in laying hens after oral administration via drinking water. *Parasites and Vectors*. 10.1186/s13071-017-2291-5

Radolf JD., Caimano MJ., Stevenson B., Hu LT. (2012). Of ticks, mice and men: understanding the dual-host lifestyle of Lyme disease spirochaetes. *Nature Reviews Microbiology*. 10:87–99.

Rand P.W., Lubelczyk C., Lavigne G.R., Elias S., Holman M.S., Lacombe E.H., Smith R.P. (2003). Deer density and the abundance of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, 40:179-184.

Rand P.W., Lubelczyk C., Holman MS., Lacombe E.H., Smith R.P. (2004). Abundance of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) After the Complete Removal of Deer from an Isolated Offshore Island, Endemic for Lyme Disease, *Journal of Medical Entomology*, 41 (4), 779–784, <https://doi.org/10.1603/0022-2585-41.4.779>

Richer LM., Brisson D., Melo R., Ostfeld RS., Zeidner N., Gomes-Solecki M. (2014). Reservoir targeted vaccine against *Borrelia burgdorferi*: a new strategy to prevent Lyme disease transmission. *Journal of Infectious Diseases*, 209(12):1972-80. doi: 10.1093/infdis/jiu005.

Richter D., Schlee D. B., Matuschka F. R. (2011). Reservoir competence of various rodents for the lyme disease Spirochete *Borrelia spielmanii*. *Applied and environmental microbiology*, 77(11), 3565–3570. <https://doi.org/10.1128/AEM.00022-11>

Rollend L., Fish D., Childs JE. (2013). Transovarial transmission of *Borrelia* spirochetes by *Ixodes scapularis*: a summary of the literature and recent observations. *Ticks and Tick Borne Diseases*, 4:45.

Rynkiewicz EC., Clay K. (2014). Tick community composition in Midwestern US habitats in relation to sampling method and environmental conditions. *Experimental Applied Acarology*, 64:109–119.

Salafsky B., He Y.X., Li J., Shibuya T., Ramaswamy K. (2000). Short report: study on the efficacy of a new long-acting formulation of N, N-diethyl-m-toluamide (DEET) for the prevention of tick attachment. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 62(2): 169-172.

Samuels DS. (2011). Gene regulation in *Borrelia burgdorferi*. *Annual Review Microbiology*, 65:479–499.

Scheckelhoff MR., Telford SR., Hu LT. (2006). Protective efficacy of an oral vaccine to reduce carriage of *Borrelia burgdorferi* (strain N40) in mouse and tick reservoirs. *Vaccine*. 10;24(11):1949-57. doi: 10.1016/j.vaccine.2005.10.044.

Schmidt K.A., Ostfeld R.S. (2001). Biodiversity and the Dilution Effect in Disease Ecology. *Ecology*, 82: 609-619. doi:10.1890/0012-9658(2001)

Schoeler GB., Lane RS. (1993). Efficiency of transovarial transmission of the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*, in the western blacklegged tick, *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae) *Journal of Medical Entomology*, 30:80–86.

Schulze T. L., Jordan R. A., Hung R. W. (1995). Suppression of subadult *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) following removal of leaf litter. *Journal of medical entomology*, 32(5), 730–733. <https://doi.org/10.1093/jmedent/32.5.730>

Schulze T. L., Jordan R. A., Krivenko A. J. (2005). Effects of barrier application of granular deltamethrin on subadult *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) and nontarget forest floor arthropods. *Journal of economic entomology*, 98(3), 976–981. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-98.3.976>

Schulze T.L., Jordan R.A., Schulze C.J., Hung R.W. (2009). Precipitation and temperature as predictors of the local abundance of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) nymphs. *Journal of Medical Entomology*, 46:1025-1029.

Sigal LH., Zahradnik JM., Lavin P., Patella SJ., Bryant G., Haselby R., Hilton E., Kunkel M., Adler-Klein D., Doherty T., Evans J., Molloy PJ., Seidner AL., Sabetta JR., Simon HJ., Klemperer MS., Mays J., Marks D., Malawista SE. (1998). A vaccine consisting of recombinant *Borrelia burgdorferi* outer-surface protein A to prevent Lyme disease. Recombinant Outer-Surface Protein A Lyme Disease Vaccine Study Consortium. *New England Journal of Medicine*. 339(4):216-22. doi: 10.1056/NEJM199807233390402.

Six R.H., Liebenberg J., Honsberger N.A., Mahabir S.P. (2016). Comparative Kill Speed of Sarolaner (Simparica) and Fluralaner (Bravecto) against induced infestations of *Ctenocephalides felis* on Dogs. *Parasites Vectors*, 9 :92. doi:10.1186/s13071-016-1373-0

Smith R.P., P.W. Rand, E.H. Lacombe, S.R. Telford, S.M. Rich, J. Piesman, et A. Spielman. (1993). Norway rats as reservoir hosts for Lyme disease spirochetes on Monhegan Island, Maine. *Journal of Infectious Diseases*, 168:687-691.

Sojka P.A. (2018). Isoxazolines, *Journal of Exotic Pet Medicine*, 27(2), 118-122, <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2018.02.038>.

Sonenshine DE. (1993). Biology of ticks. Vol. 2. *Oxford University Press*; Oxford.

Spielman A., Wilson M.L., Levine J.F. (1985). Ecology of *Ixodes dammini*-borne human babesiosis and Lyme disease. *Annual Review of Entomology*. 30: 439-460.

Springer YP., Jarnevich CS., Barnett DT., Monaghan AJ., Eisen RJ. (2015). Modeling the Present and Future Geographic Distribution of the Lone Star Tick, *Amblyomma americanum* (Ixodida: Ixodidae), in the Continental United States. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.*, 93(4):875-90. doi: 10.4269/ajtmh.15-0330.

Stafford K. C. (1992). Oviposition and larval dispersal of *Ixodes dammini* (Acari, Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*. 29: 129-132.

Stafford K. C. III, Ward J. S., Magnarelli L. A. (1998). Impact of controlled burns on the abundance of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*. 35, 510–513

Stafford KC., Denicola AJ., Kilpatrick HJ. (2003). Reduced abundance of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) and the tick parasitoid *Ixodiphagus hookeri* (Hymenoptera: Encyrtidae) with reduction of white-tailed deer. *Journal of Medical Entomology*. 40: 642-652

Stafford K.B. III, Williams S.C., Molaei G. (2017). Integrated Pest Management in Controlling Ticks and Tick-Associated Diseases, *Journal of Integrated Pest Management*, 8, 1, 28, <https://doi.org/10.1093/jipm/pmx018>

Steere AC., McHugh G., Damle N., Sikand VK. (2008) Prospective study of serologic tests for Lyme disease. *Clinical Infectious Diseases*. 47:188–195.

Steere A. C., Strle F., Wormser G. P., Hu L. T., Branda J. A., Hovius J. W., Li X., Mead P. S. (2016). Lyme borreliosis. *Nature reviews. Disease primers*, 2, 16090. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.90>

Straubinger R.K. (2018). *Lyme Disease (Lyme borreliosis) in cats*. MSD Manual. <https://www.msdtvetmanual.com/cat-owners/disorders-affecting-multiple-body-systems-of-cats/lyme-disease-lyme-borreliosis-in-cats>

Stübs G., Fingerle V., Zähringer U., Schumann RR., Rademann J., Schröder NW. (2011). Acylated cholesteryl galactosides are ubiquitous glycolipid antigens among *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 63(1):140-3. doi: 10.1111/j.1574-695X.2011.00827.x.

Swei A., Ostfeld R. S., Lane R. S., Briggs C. J. (2011). Impact of the experimental removal of lizards on Lyme disease risk. *Proceedings. Biological sciences*, 278(1720), 2970–2978. <https://doi.org/10.1098/rspb.2010.2402>

Telford S., Cunningham J., Waltari E., Hu L. (2011). Nest box-deployed bait for delivering oral vaccines to white-footed mice. *Ticks and tick-borne diseases*. 2. 151-5. 10.1016/j.ttbdis.2011.06.001.

Tilly K., Rosa P.A., Stewart P.E. (2008). Biology of Infection with *Borrelia Burgdorferi*. *Infectious Disease Clinics of North America*, 22(2), 217–234. doi: 10.1016/j.idc.2007.12.013

Tsao J. I., Wootton T., Bunikis J., Luna M.G., Fish D., Barbour A.G. (2004). An ecological approach to preventing human infection: Vaccinating wild mouse reservoirs intervenes in the Lyme disease cycle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101 (52) 18159-18164; doi: 10.1073/pnas.0405763102

Ullmann AJ., Lane RS., Kurtenbach K., Miller M., Schriefer ME., Zeldner N., Piesman J. (2003). Bacteriolytic activity of selected vertebrate sera for *Borrelia burgdorferi sensu stricto* and *Borrelia bissettii*. *Journal of Parasitology*, 89:1256–1257.

Vail SG., Smith G. (1998), Air temperature and relative humidity effects on behavioral activity of blacklegged tick (Acari: Ixodidae) nymphs in New Jersey. *Journal of Medical Entomology*, 35:1025–1028.

Vail SG., Smith G. (2002). Vertical movement and posture of blacklegged tick (Acari: Ixodidae) nymphs as a function of temperature and relative humidity in laboratory experiments. *Journal of Medical Entomology*, 39:842–846.

Valneva. (2020). *Lyme Disease- VLA15*. <https://valneva.com/research-development/lyme-disease/>

Vandyk JK., Bartholomew DM., Rowley WA., Platt KB. (1996). Survival of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) exposed to cold. *Journal of Medical Entomology*, 33:6–10

Vatta A.F., Young D.R., King V.L., Myers M.R. (2019). Comparative efficacy of topical treatments with Revolution® Plus (selamectin and sarolaner) and Bravecto® for Cats (fluralaner) against *Ixodes scapularis* ticks on cats. *Veterinary Parasitology*, 270:P, S58-S63

Vourc'h G., Abrial D., Bord S., Jacquot M., Masségli S., Poux V., Pisanu B., Bailly, X., Chapuis J-L. (2016). Mapping human risk of infection with *Borrelia burgdorferi sensu lato*, the agent of Lyme borreliosis, in a periurban forest in France, *Ticks and Tick-borne Diseases*, 7, 5, 644-652, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.02.008>.

Wang Y., Kern A., Boatright N. K., Schiller Z. A., Sadowski A., Ejemel M., Souders C. A., Reimann K. A., Hu L., Thomas W. D., Jr, Klempner M. S. (2016). Pre-exposure Prophylaxis with OspA-Specific Human Monoclonal Antibodies Protects Mice Against Tick Transmission of Lyme Disease Spirochetes. *The Journal of infectious diseases*, 214(2), 205–211. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw151>

Watson T. G., Anderson, R.C. (1976). *Ixodes scapularis* say on white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) from Long Point, Ontario. *Journal of Wildlife Diseases*, 12 (1), 66-71.

Wengenmayer C., Williams H., Zschiesche E., Moritz A., Langenstein J., Roepke R. K., Heckerroth A. R. (2014). The speed of kill of fluralaner (Bravecto™) against *Ixodes ricinus* ticks on dogs. *Parasites & vectors*, 7, 525. <https://doi.org/10.1186/s13071-014-0525-3>

Wilhelmsson P., Fryland L., Lindblom P., Sjöwall J., Ahlm C., Berglund J., Haglund M., Henningsson AJ., Nolskog P., Nordberg M., Nyberg C., Ornstein K., Nyman D., Ekerfelt C., Forsberg P., Lindgren PE. (2016). A prospective study on the incidence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection after a tick bite in Sweden and on the Åland Islands, Finland (2008-2009). *Ticks and tick-borne diseases*, 7(1), 71-79, doi: 10.1016/j.ttbdis.2015.08.009

Wolff J.O. (1996). Coexistence of White-footed mice and deer mice may be mediated by fluctuating environmental conditions. *Oecologia*, 108:529-533. doi: 10.1007/BF00333730

Wormser GP., Dattwyler RJ., Shapiro ED., Halperin JJ., Steere AC., Klempner MS., Krause PJ., Bakken JS., Strle F., Stanek G., Bockenstedt L., Fish D., Dumler JS., Nadelman RB. (2006). The clinical assessment, treatment, and prevention of lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*. 43(9):1089-134. doi: 10.1086/508667.

Zellner B., Huntley J. F. (2019). Ticks and Tularemia: Do We Know What We Don't Know? *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 9, 146. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00146>

Zhao C., Casida JE. (2014). Insect  $\gamma$ -aminobutyric acid receptors and isoxazoline insecticides: toxicological profiles relative to the binding sites of [<sup>3</sup>H]fluralaner, [<sup>3</sup>H]-4'-ethynyl-4-n-propylbicycloorthobenzoate, and [<sup>3</sup>H]avermectin. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. doi: 10.1021/jf4050809

# Annexes

## Annexe 1

Tableau III. Résultats de la capture et des données de prévalence sur les terrains d'étude des Milles-îles de l'étude de Lisa Werden

Terrain d'étude	Année	Espèces capturées (nombre par espèce)	Prévalence des anticorps pour <i>Borrelia burgdoferi</i> chez <i>Peromyscus</i> (%)	Prévalence de l'infection par <i>Borrelia burgdoferi</i> chez les tiques <i>Ixodes scapularis</i> adulte et nymphe prélevée dans l'environnement (prévalence combinée 2009 et 2010) (%)
Jones Creek	2009	<i>Peromyscus</i> (31) <i>Blarina</i> (15) <i>Tamias</i> (15) <i>Glaucmys</i> (2)	0	Adulte : 0  Nymphe : 0
	2010	<i>Peromyscus</i> (13) <i>Blarina</i> (14) <i>Tamias</i> (7) <i>Glaucmys</i> (1) <i>Sorex</i> (1)	0	
Grenadier	2009	<i>Peromyscus</i> (35) <i>Blarina</i> (2) <i>Tamias</i> (3)	22.9	Adulte : 63.3  Nymphe : 29.6

---

	2010	<i>Peromyscus</i> (70) <i>Blarina</i> (4) <i>Tamias</i> (1) <i>Mustela</i> (2)	27.3	
--	------	---	------	--

---

<b>Thwartway</b>	2009	<i>Peromyscus</i> (48) <i>Microtus</i> (1)	58.2	Adulte : 29.5 Nymphe : 13.3
	2010	<i>Peromyscus</i> (25) <i>Microtus</i> (1)	65.2	

---

<b>Hill</b>	2009	<i>Peromyscus</i> (50) <i>Blarina</i> (5) <i>Tamias</i> (14)	8.5	Adulte : 50.0 Nymphe : 13.8
	2010	<i>Peromyscus</i> (20) <i>Blarina</i> (10) <i>Tamias</i> (9) <i>Glaucmys</i> (3) <i>Tamiasciurus</i> (1)	31.8	

---



---

<b>Landon Bay</b>	2009	<i>Peromyscus</i> (9) <i>Tamias</i> (6)	0	Adulte: 0 Nymphe: 25.0
	2010	<i>Peromyscus</i> (10) <i>Blarina</i> (9) <i>Tamias</i> (4)	25.0	

---

Adapté de Werden et al. 2014. Note : le site appelé Mallorytown dans l'étude de Lisa Werden est géographiquement plus proche du site de Jones Creek dans la présente étude. À des fins de comparaison et pour éviter la confusion, le site appelé Jones Creek dans le présent tableau est le site Mallorytown dans l'étude originale.

## Annexe 2

Tableau IV. Taille, distance à la frontière des États-Unis et coordonnées géographiques dans 5 sites étudiés dans le parc national des Milles-îles

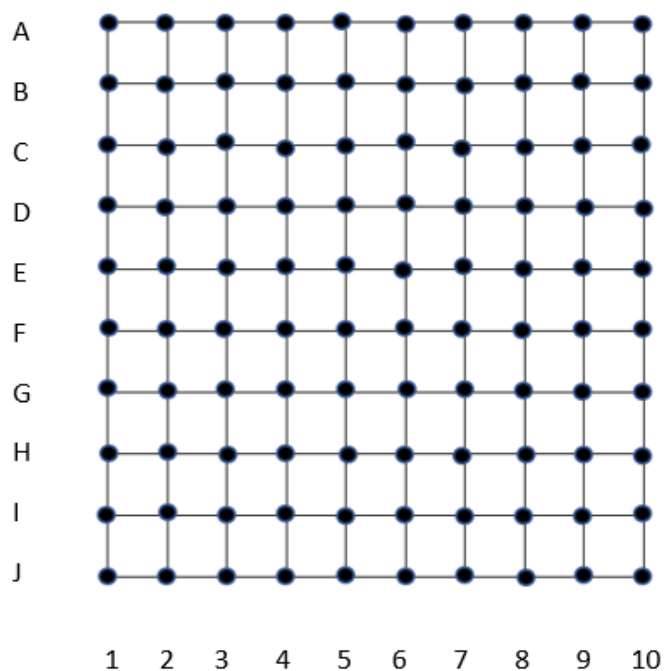
Site	Taille (ha)	Distance au continent des États-Unis (km)	Coordonnées géographiques du point central du terrain d'étude de Lisa Werden	Coordonnées géographiques de deux points délimitant la parcelle contrôle du site d'étude	Coordonnées géographiques de deux points délimitant la parcelle sarolaner du site d'étude	Coordonnées géographiques de deux points délimitant la parcelle fluralaner du site d'étude
<b>Jones Creek</b>	Terrain continental	5.4	44°27'18.749"N 75°51'53.349"W	H10 44°28'25.2"N 75°51'57.0"W	B10 44°28'33.5"N 75°51'14.9"W	JFJ10 44°28'35.9"N 75°51'54.0"W
				E10 44°28'23.6"N 75°51'57.3"W	H10 44°28'35.2"N 75°51'11.9"W	JFA10 44°28'31.9"N 75°51'56.9"W
<b>Grenadier</b>	406.6	2.2	44°24'11.028"N 75°52'40.559"W	I10 44°24'15.3"N 75°52'32.3"W	GSI10 44°24'37.7"N 75°52'30.2"W	-

				A5	44°24'19.1"N	GSC10	44°24'39.5"N		
					75°52'36.2"W		75°52'26.4"W		
<b>Thwartway</b>	40.0	6.6	44°17'33.052"N	A10	44°17'25.1"N	B10	44°17'32.4"N	-	
			76°09'7.582"W		76°09'07.5"W		76°09'02.4"W		
				J10	44°17'24.1"N	G10	44°17'35.1"N		
					76°09'11.9"W		76°09'02.4"W		
<b>Hill</b>	531.0	2.5	44°20'58.397"N	G10	44°21'10.1"N	A9	44°21'02.7"N	A3	44°21'20.6"N
			75°57'52.964"W		75°58'35.5"W		75°57'54.5"W		75°57'59.6"W
				A10	44°21'09.7"N	A1	44°21'00.5"N	A6	44°21'21.8"N
					75°58'39.1"W		75°57'59.8"W		75°57'58.7"W
<b>Landon Bay</b>	Terrain continental	9.1	44°21'14.804"N	I10	44°21'18.9"N	B10	44°21'36.0"N	-	
			76°4'20.649"W		76°04'09.1"W		76°03'50.1"W		
				A10	44°21'22.7"N	E10	44°21'34.7"N		
					76°04'08.2"W		76°03'48.2"W		

Adapté de Werden et al. 2014. Note : les deux points notés pour chaque parcelle ont été choisis pour faciliter le repérage de la parcelle à son entrée et le déplacement à l'intérieur de celle-ci sur le terrain, en tenant compte des particularités géographiques de chaque terrain

### Annexe 3

Figure 1. Représentation schématique des parcelles constituant le terrain d'étude



Note : Chaque point est représenté dans la forêt par un ruban fluorescent attaché autour du tronc de l'arbre le plus proche. Chaque point est distancé de 15 mètres; il y a donc 135 mètres de distance entre le point J1 et J10, et entre J1 et A1. La grille a une superficie totale de 135 mètres X 130 mètres soit 18 225 mètres carrés.