

Étude épidémiologique sur les zoonoses  
transmises par les tiques dans le sud-ouest  
du Québec – 2007

INSTITUT NATIONAL  
DE SANTÉ PUBLIQUE  
DU QUÉBEC

Québec 



# Étude épidémiologique sur les zoonoses transmises par les tiques dans le sud-ouest du Québec – 2007

Direction des risques biologiques  
et de la santé au travail

Décembre 2008

## **AUTEURS**

Soulyvane Nguon, vétérinaire  
Direction des risques biologiques et de la santé au travail  
Institut national de santé publique du Québec

François Milord, médecin conseil  
Direction des risques biologiques et de la santé au travail  
Institut national de santé publique du Québec

Nicholas Ogden, vétérinaire chercheur  
Agence de la santé publique du Canada  
Université de Montréal

Louise Trudel, parasitologue  
Laboratoire de santé publique du Québec  
Institut national de santé publique du Québec

Robbin Lindsay, chercheur  
Laboratoire national de microbiologie  
Agence de la santé publique du Canada

Catherine Bouchard, étudiante Ph.D.  
Université de Montréal

## **EN COLLABORATION AVEC**

Faculté des sciences de l'Université de Sherbrooke  
Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal

## **MISE EN PAGE**

Sofia El Mouftaquir, agente administrative I  
Direction des risques biologiques et de la santé au travail  
Institut national de santé publique du Québec

## **REMERCIEMENTS**

Nous tenons à remercier André-Pierre Gagnon et Amélie Langlois (terrain), Laurie St-Onge et Stéphanie Brazeau de l'Agence de la santé publique du Canada (ASPC), le personnel du Laboratoire de santé publique du Québec (LSPQ) et du Laboratoire national de microbiologie (LNM), Steeve Fournier, détenteur d'une maîtrise en environnement à l'Université de Sherbrooke, ainsi que tous les propriétaires des sites visités pour leur collaboration.

*Ce document est disponible intégralement en format électronique (PDF) sur le site Web de l'Institut national de santé publique du Québec au : <http://www.inspq.qc.ca>.*

*Les reproductions à des fins d'étude privée ou de recherche sont autorisées en vertu de l'article 29 de la Loi sur le droit d'auteur. Toute autre utilisation doit faire l'objet d'une autorisation du gouvernement du Québec qui détient les droits exclusifs de propriété intellectuelle sur ce document. Cette autorisation peut être obtenue en formulant une demande au guichet central du Service de la gestion des droits d'auteur des Publications du Québec à l'aide d'un formulaire en ligne accessible à l'adresse suivante : <http://www.droitauteur.gouv.qc.ca/autorisation.php>, ou en écrivant un courriel à : [droit.auteur@cspq.gouv.qc.ca](mailto:droit.auteur@cspq.gouv.qc.ca).*

*Les données contenues dans le document peuvent être citées, à condition d'en mentionner la source.*

DÉPÔT LÉGAL – 3<sup>e</sup> TRIMESTRE 2010  
BIBLIOTHÈQUE ET ARCHIVES NATIONALES DU QUÉBEC  
BIBLIOTHÈQUE ET ARCHIVES CANADA  
ISSN : 1923-709X (VERSION IMPRIMÉE)  
ISSN : 1923-7103 (PDF)  
ISBN : 978-2-550-59612-7 (VERSION IMPRIMÉE)  
ISBN : 978-2-550-59613-4 (PDF)

©Gouvernement du Québec (2010)

## TABLE DES MATIÈRES

<b>LISTE DES TABLEAUX</b> .....	<b>III</b>
<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	<b>V</b>
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>1</b>
<b>1 REVUE DE LITTÉRATURE</b> .....	<b>5</b>
1.1 <i>Ixodes scapularis</i> .....	5
1.2 Agent infectieux .....	7
1.2.1 <i>Borrelia burgdorferi</i> .....	7
1.2.2 <i>Anaplasma phagocytophilum</i> .....	7
1.2.3 Hantavirus.....	8
<b>2 MÉTHODOLOGIE</b> .....	<b>9</b>
2.1 Généralités .....	9
2.2 Période et région d'étude .....	9
2.3 Choix des sites d'échantillonnage .....	10
2.3.1 La sélection de la superficie forestière .....	11
2.3.2 La sélection du type de peuplement forestier .....	11
2.3.3 L'emplacement et l'accessibilité du site.....	11
2.3.4 Le processus de relocalisation des sites .....	12
2.4 Visites sur le terrain : capture et technique de la flanelle .....	12
2.4.1 Première visite .....	12
2.4.2 Capture et manipulation des petits mammifères .....	12
2.4.3 Description du site .....	13
2.4.4 Collecte des tiques dans l'environnement .....	14
2.4.5 Méthodes exploratoires de recherche de tiques.....	14
2.5 Conservation et envoi des échantillons .....	15
2.6 Laboratoire .....	15
2.6.1 Identification des espèces de souris du genre <i>Peromyscus</i> .....	15
2.6.2 Identification des tiques .....	15
2.6.3 Sérologie .....	15
2.6.4 Recherche d'agents pathogènes .....	16
2.7 Analyses descriptives .....	16
<b>3 RÉSULTATS</b> .....	<b>17</b>
3.1 Sites visités.....	17
3.2 Petits mammifères capturés .....	18
3.3 Tiques collectées.....	19
3.3.1 Ensemble des tiques .....	19
3.3.2 Saisonnalité .....	21
3.3.3 Méthodes de collecte des tiques .....	21
3.4 Résultats de laboratoire : plasmas, tiques et tissus.....	31
<b>DISCUSSION</b> .....	<b>33</b>
<b>RÉFÉRENCES</b> .....	<b>39</b>
<b>ANNEXE 1 LISTES DES SDR OÙ IL Y A EU RECHERCHE DE TIQUES SUR DES SOURIS ET/OU LA FLANELLE ET/OU LES CERFS DE VIRGINIE</b> .....	<b>45</b>
<b>ANNEXE 2 INFORMATIONS SUR LES SOURIS</b> .....	<b>49</b>



## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	Catégories de sélection de SDR.....	10
Tableau 2	Proportion de sites échantillonnés sur les sites sélectionnés en fonction des régions et de leur niveau de risque .....	17
Tableau 3	Fréquence de tiques collectées par méthode de collecte en fonction de l'espèce.....	20
Tableau 4	Fréquence de tiques par stade en fonction de l'espèce.....	20
Tableau 5	Fréquence de tiques <i>I. scapularis</i> par méthode de collecte en fonction du stade de la tique.....	22
Tableau 6	Fréquence de tiques obtenues par espèce animale capturée en fonction de l'espèce de la tique .....	23



## LISTE DES FIGURES

Figure 1	Emplacement des 46 sites visités et des niveaux de risque .....	18
Figure 2	Nombre de tiques par stade et espèce selon le mois, excluant les tiques collectées sur les rats laveurs et les mouffettes. ....	21
Figure 3	Fréquence d' <i>I. scapularis</i> collectés par espèce animale selon le stade .....	23
Figure 4	Proportion d'animaux parasités par au moins une tique par SDR (méthode de la capture des petits rongeurs) .....	24
Figure 5	Nombre de tiques <i>I. scapularis</i> obtenues à l'aide de la flanelle durant l'été (première étape de l'étude) et proportion selon le stade, par SDR .....	25
Figure 6	Nombre de tiques <i>I. scapularis</i> obtenues à l'aide de la flanelle durant l'automne (deuxième étape de l'étude) et proportion selon le stade, par SDR .....	26
Figure 7	Nombre d'animaux examinés aux stations d'enregistrement de la faune en fonction du nombre de tiques par animal parasité .....	27
Figure 8	Distribution géographique des cerfs de Virginie parasités et non parasités par <i>I. scapularis</i> .....	28
Figure 9	Nombre d'animaux examinés par catégorie de nombre de tiques <i>I. scapularis</i> collectées par cerf de Virginie en fonction du délai entre l'abattage et l'enregistrement de l'animal, excluant les animaux non parasités .....	29
Figure 10	Nombre total de tiques <i>I. scapularis</i> collectées par toutes les méthodes confondues et proportion selon le stade, par SDR. ....	30
Figure 11	Localisation des spécimens de plasmas et de tiques positifs à l'hantavirus, <i>Borrelia burgdorferi</i> et <i>Anaplasma phagocytophilum</i> .....	32



## INTRODUCTION

*Ixodes scapularis*, communément appelé tique à pattes noires ou tique du chevreuil, est un vecteur important de maladies telles que l'anaplasmose, la babésiose, ainsi que la maladie de Lyme (Bakken *et al.*, 1994; Burgdorfer *et al.*, 1982; Chen *et al.*, 1994; Pancholi *et al.*, 1995; Spielman *et al.*, 1979; Spielman *et al.*, 1985). L'agent causal de la maladie de Lyme en Amérique du Nord est *Borrelia burgdorferi sensu lato* (Ogden *et al.*, 2008a). Cette maladie représente un intérêt particulier pour la santé publique puisque le nombre de cas rapportés est en croissance constante aux États-Unis (CDC, 2004a; 2004b). Elle est aujourd'hui la zoonose vectorielle la plus commune aux États-Unis et en Europe. La plupart des cas américains surviennent dans les États du nord-est et du centre-nord des États-Unis et plusieurs ont une frontière commune avec le Canada (Maine, New Hampshire, Vermont, New York, Pennsylvanie, Michigan, Wisconsin et Minnesota). Selon les données actuelles, les populations établies de tiques vectrices et les cycles endémiques naturels de *B. burgdorferi* semblent avoir une aire géographique limitée en sol canadien. Par contre, le nombre de populations établies d'*I. scapularis* semble augmenter au pays (Ogden *et al.*, 2008a). Entre 1971 et 1991, une seule population de la tique vectrice *I. scapularis* avait été identifiée au Canada. Celle-ci se retrouvait isolée à Long Point (Ontario) sur la côte nord du lac Érié (Santé Canada, 1991). Depuis 1991, il y a eu une augmentation progressive du nombre de sites reconnus comme endémiques pour *I. scapularis*. Il y a maintenant 7 sites en Ontario à proximité du lac Érié et du lac Ontario, 3 en Nouvelle-Écosse et un au Manitoba. En 2006, un site endémique a été mis en évidence dans les Mille-Îles à l'embouchure du Lac Ontario, à environ 150 km à l'ouest de la frontière québécoise (Ogden *et al.*, 2008a).

Les deux premières nymphes provenant du Québec détectées par le programme de surveillance passive du Laboratoire de santé publique du Québec ont été rapportées en 2006 (Louise Trudel, communication personnelle, 2007). Les données de cette surveillance rapportent 3 050 mentions d'*I. scapularis* entre 1990 et 2006, 99,8 % étant des adultes. Globalement, 11,1 % des tiques de cette espèce, en provenance du Québec, étaient infectées par *B. burgdorferi* au cours de cette période. Ce système de surveillance passive est l'un des plus performants au Canada (Ogden *et al.*, 2006; Trudel et Rochefort, communication personnelle, 2007). Toutefois, très peu de recherches actives sur le terrain ont été effectuées au Québec. En mai et juin 2005, Fournier (2006) a investigué 14 sites situés dans 9 municipalités de la Montérégie présentant des conditions favorables à l'établissement de cette tique. Au total, 156 mammifères ont été capturés dont 11 souris sylvestres (*Peromyscus maniculatus*) et 85 souris à pattes blanches (*Peromyscus leucopus*). Les 27 tiques prélevées sur les animaux ou dans l'environnement appartenaient à trois espèces différentes. Treize nymphes et 2 adultes *I. scapularis* ont été dénombrés dans 5 municipalités dont une où on répertoriait 6 tiques. Ces nymphes sont les premiers spécimens immatures d'*I. scapularis* à être identifiés au Québec. Aucune tique ou souris ne s'est avérée positive pour l'agent pathogène de la maladie de Lyme, *Borrelia burgdorferi*. Par ailleurs, la présence d'anticorps contre l'hantavirus a été détectée chez deux des 94 souris testées.

En parallèle à cet élargissement de la distribution géographique du vecteur, une augmentation des cas humains de la maladie de Lyme a aussi été observée au Canada. De 1995 à 2003, le nombre annuel maximal de cas humains acquis localement était inférieur à 15, mais entre 2004 et 2006, 69 cas acquis localement ont été déclarés (Ogden *et al.*, 2008a). Bien qu'aucun cas confirmé n'ait été rapporté chez des québécois n'ayant pas voyagé à l'extérieur de la province, l'ensemble de ces données appuient l'hypothèse qu'*I. scapularis* est en cours d'établissement dans le sud-ouest du Québec.

Il y a plusieurs raisons pour les autorités de santé publique du Québec d'identifier les zones endémiques pour la maladie de Lyme, en plus d'une évaluation de la menace que présente cette maladie pour la population résidante. La première raison est la validation des modèles théoriques développés sur le sujet. Des études de modélisation suggèrent une accélération de l'émergence de la maladie de Lyme dans les prochaines années à cause du réchauffement du climat (Ogden *et al.*, 2005a; 2005b). Pour anticiper cette évolution, des chercheurs de l'Agence de la santé publique du Canada ont préparé des cartes de risque de l'établissement de populations de tiques en fonction de la température et de la zone de dispersion des tiques par les oiseaux migrateurs (Ogden *et al.*, 2008b). Ces cartes de risque fournissent des estimations de l'étendue géographique d'*I. scapularis* présentement et pour les années 2020, 2050 et 2080, en tenant compte des changements de température prédits pour le Canada par les modèles climatiques. Un objectif visé par l'élaboration de ces cartes de risque est de mieux cibler les efforts de surveillance et de contrôle de la maladie de Lyme au Canada. Puisqu'elles découlent de modèles, il est nécessaire de valider les cartes de risque par des études de terrain. De plus, les prédictions sur l'évolution des populations dans les années à venir dépendent directement de la répartition actuelle des populations de tiques.

La deuxième raison est davantage clinique. En effet, seules les lésions d'érythème migrant (EM) sont pathognomoniques de la maladie de Lyme (Ogden *et al.*, 2008a). Ces lésions ne sont reconnues que dans 60 à 80 % des cas. À cela, il faut ajouter que l'interprétation des résultats des tests diagnostiques est difficile (Canadian Public Health Laboratory Network, 2007). Elle doit nécessairement se faire en conjonction avec l'anamnèse du patient, entre autres le fait de savoir si le patient s'est retrouvé dans une région endémique, d'où l'importance de savoir s'il y a des régions endémiques au Québec. Cette connaissance offrirait un outil supplémentaire aux professionnels de la santé pour diagnostiquer une maladie émergente comme la maladie de Lyme.

Troisièmement, des chercheurs ont constaté que *B. burgdorferi* est dans une période d'évolution rapide dans le nord-est de l'Amérique du Nord (Ogden, communication personnelle, 2007). On s'inquiète du fait que la diversité génétique puisse avoir des répercussions importantes pour les diagnostics clinique et sérologique de la maladie de Lyme parce que des souches différentes peuvent être plus ou moins pathogènes, et produire un tableau clinique variable chez l'humain. De plus, certaines souches pourraient stimuler une réponse immunologique mal détectée par les épreuves de laboratoire actuellement disponibles. Pour ces raisons, une meilleure connaissance de la diversité génétique actuelle de *B. burgdorferi* au Canada, comparativement à celle des États-Unis est également nécessaire.

Le but de cette étude de terrain était d'améliorer notre connaissance de la répartition de la tique vectrice de zoonoses *I. scapularis* et des sites endémiques pour la maladie de Lyme et l'anaplasmose au Québec. Les objectifs principaux étaient les suivants :

- déterminer l'étendue de la zone d'établissement de la tique *I. scapularis* dans le sud-ouest du Québec;
- documenter la présence de *B. burgdorferi* et *A. phagocytophilum* dans les tiques et les souris du genre *Peromyscus*;
- faire une étude pilote sur la validation des cartes de risque en comparant la prévalence des populations de tiques entre les secteurs à risque élevé et modéré de maladie de Lyme dans le sud-ouest du Québec;
- fournir le matériel nécessaire pour investiguer la diversité génétique de *Borrelia burgdorferi*.

Les travaux réalisés lors de ce projet avaient aussi deux objectifs secondaires :

- documenter la prévalence de l'hantavirus chez les souris du genre *Peromyscus*;
- explorer l'utilité d'autres méthodes de surveillance des tiques par l'intermédiaire des animaux de la faune (ex. : capture de rats laveurs et examen de cervidés).

Les deux principales hypothèses testées par ce projet de recherche étaient les suivantes :

- il y a actuellement des populations établies de la tique *I. scapularis* dans le sud-ouest du Québec;
- il y a une corrélation entre le niveau de risque prédit par les cartes de risque et les tiques découvertes sur le terrain, c'est-à-dire qu'on retrouve davantage de populations de tiques dans les secteurs à risque élevé que dans les secteurs à risque modéré.



# 1 REVUE DE LITTÉRATURE

Cette courte revue de littérature démontre l'importance de certaines espèces de tiques et de rongeurs dans le maintien d'un cycle enzootique pour plusieurs maladies infectieuses potentiellement transmissibles à l'humain. De plus, une description de chacun des agents infectieux et des maladies faisant l'objet de notre étude est présentée.

## 1.1 *Ixodes scapularis*

*Ixodes scapularis* est un important vecteur de zoonoses. Le cycle de vie d'*I. scapularis* s'étend sur deux ans et comprend trois stades actifs : larve, nymphe et adulte. Chaque stade nécessite que la tique prenne un repas sanguin sur un hôte différent.

Le cycle commence au printemps lorsque la femelle pond ses œufs. Après une période d'incubation d'environ un mois, les œufs éclosent et le stade larvaire débute. Vers la fin de l'été, les larves (environ 1 mm) trouvent un hôte pour leur premier repas sanguin. Cet hôte est principalement la souris à pattes blanches (*Peromyscus leucopus*) (Anderson, 1991; 2002; Spielman et al., 1985), mais il peut aussi s'agir d'un autre mammifère, d'un oiseau ou d'un humain (Anderson, 1988). Le repas sanguin de la larve dure entre 2 et 5 jours (Anderson, 2002). La larve se détache ensuite et demeure dans la litière. Au printemps suivant, elle mue et passe au stade de nymphe. De la fin du mois de mai jusqu'à la mi-juillet, les nymphes sont particulièrement actives. Elles se posent sur la végétation basse et tentent de s'accrocher à un deuxième hôte afin de prendre un autre repas sanguin. Différents vertébrés peuvent servir d'hôte à cette étape. C'est d'ailleurs à ce stade que les tiques risquent le plus d'infecter un humain (Barbour et Fish, 1993). La nymphe reste environ 3 à 5 jours sur son hôte pour son deuxième repas sanguin (Anderson, 2002). À l'automne, elle mue et passe au stade adulte. Les femelles adultes cherchent activement un hôte, principalement le cerf de Virginie (*Odocoileus virginianus*) en s'accrochant aux herbes hautes ou à des arbustes. Les femelles restent sur leur hôte environ 7 à 10 jours jusqu'à ce qu'elles soient engorgées (Anderson, 2002). Après la période de diapause durant l'hiver, les femelles pondent de 2 000 à 3 000 œufs et le cycle recommence.

En plus de la présence de vecteurs compétents et d'hôtes potentiels, il faut également la présence d'au moins une espèce réservoir pour qu'un cycle enzootique de *B. burgdorferi* puisse s'établir. La souris à pattes blanches (*P. leucopus*) est à la fois un hôte important des stades immatures de *I. scapularis* et un réservoir de *B. burgdorferi* (Spielman et al., 1985). Cependant, plusieurs animaux, principalement des rongeurs, peuvent servir de réservoir. On compte par exemple le tamia rayé (*Tamias striatus*), l'écureuil roux (*Tamiasciurus hudsonicus*), le campagnol des champs (*Microtus pennsylvanicus*) et la souris sauteuse des bois (*Napaeozapus insignis*) (Anderson, 1988). Il faut noter que toutes ces espèces sont présentes au Québec.

Certains facteurs peuvent limiter ou favoriser la distribution géographique d'*I. scapularis* (Ogden et al., 2008a). Tout d'abord, il y a l'habitat. Ces tiques passent une très grande partie de leur vie dans l'environnement (la litière à la surface du sol ou la végétation basse). Ainsi, un habitat qui protège les tiques contre la noyade, la déshydratation, la prédation et la congélation prolongée, favorisera leur survie. Selon plusieurs études recensées sur la

biologie d'*I. scapularis*, un grand nombre d'habitats dans l'est du Canada permettent la survie de la tique favorisant sa propagation vers le nord. Les forêts de feuillus seraient les plus propices (Adler *et al.*, 1992; Allen *et al.*, 2003; Bertrand et Wilson, 1996; Ginsberg et Edwing, 1989; Guerra *et al.*, 2002; Lubelcyk *et al.*, 2004; Ostfeld *et al.*, 1995). Dans une étude réalisée sur les rives du lac Érié (Long Point), Lindsay *et al.* (1999) ont trouvé que les peuplements dominés par l'érable (*Acer saccharum*) et le chêne rouge (*Quercus rubra*) étaient des habitats favorables aux stades immatures d'*I. scapularis*. Ceci s'expliquerait par le fait que ces types d'associations végétales produisent une litière épaisse qui permet de maintenir les conditions microclimatiques nécessaires à la survie des œufs (Lindsay *et al.*, 1999), des larves (Adler *et al.*, 1992; Ginsberg et Ewing, 1989; Jones et Kitron, 2000; Schulze et Jordan, 1996; Stafford, 1994), des nymphes (Ginsberg *et al.*, 2004; Schulze *et al.*, 1995; Stafford, 1994) ou des adultes (Bertrand et Wilson, 1996). En effet, les tiques ont un ratio surface/volume élevé et passent la majorité de leur vie séparées de leur hôte, de sorte que l'association avec un type d'habitat particulier dépendra grandement de la capacité de cet habitat à fournir les conditions d'humidité adéquates (Stafford, 1994). En fait, les stades immatures d'*I. scapularis* ne survivent pratiquement pas à une humidité relative plus basse que 75 % (Ogden *et al.*, 2004; Stafford, 1994). Cependant, une humidité excessive ne serait pas propice au développement de cette espèce de tique, probablement à cause de la croissance de champignons réduisant la survie des œufs (Guerra *et al.*, 2002).

L'abondance des hôtes constitue un deuxième facteur pour l'établissement d'une population de tiques (Ogden *et al.*, 2008a). Certaines études démontrent un lien entre l'abondance de *I. scapularis* et de son hôte principal (*Peromyscus*) et la présence d'une strate arbustive dense (Adler *et al.*, 1992; Bertrand et Wilson, 1996; Ginsberg et Edwing, 1989; Schulze *et al.*, 1998; Schulze et Jordan, 1996). Dans le même ordre d'idée, la littérature scientifique mentionne l'importance de la présence de peuplements feuillus suffisamment matures, représentés par des arbres plus grands, puisque ce type d'habitat est nécessaire pour soutenir les populations de cerfs de Virginie (Lubelcyk *et al.*, 2004; Rand *et al.*, 2003; Spielman *et al.*, 1985; Wilson *et al.*, 1985). La fragmentation des forêts est également importante. En effet, une étude démontre que la fragmentation peut accroître l'abondance des nymphes *I. scapularis* (Allen *et al.*, 2003). L'abondance des nymphes dans les fragments forestiers plus petits s'expliquerait par la réduction de la diversité des espèces hôtes, qui aurait pour effet d'accroître la densité de l'espèce *P. leucopus*. En effet, la fragmentation entraîne un accroissement de la densité des espèces généralistes (LoGiudice *et al.*, 2003).

Le déplacement des tiques par les hôtes sur de longues distances est un autre facteur important dans l'établissement d'une population de tiques dans une région. En effet, les tiques ont une capacité très limitée de se déplacer d'elles-mêmes. Il est estimé qu'environ 3 milliards d'oiseaux terrestres migrent dans les régions boréales du Canada chaque année et qu'un nombre notable passe par les régions infestées par *I. scapularis* dans le nord des États-Unis et le sud-est du Canada (Ogden *et al.*, 2008a; Scott *et al.*, 2001). Il est à noter que ce phénomène coïncide avec la saison d'activité printanière du stade nymphal d'*I. scapularis* (Wilson et Spielman, 1985).

Finalement, le dernier facteur à mentionner est le climat (Ogden *et al.*, 2008a). Les étés doivent être suffisamment chauds et longs pour que les tiques puissent compléter leur cycle de vie. Les changements climatiques devraient déplacer vers le nord l'expansion de l'aire de la plupart des arthropodes terrestres de l'hémisphère Nord, tels que les tiques *I. scapularis*. Le réchauffement climatique observé au cours de la dernière décennie a potentiellement accéléré la vitesse d'établissement des populations d'*I. scapularis* (Ogden *et al.*, 2005a; 2005b).

## **1.2 AGENT INFECTIEUX**

### **1.2.1 *Borrelia burgdorferi***

La maladie de Lyme est une maladie à déclaration obligatoire causée par le spirochète *B. burgdorferi*, et transmise aux humains par la tique *I. scapularis*. Cette maladie se présente généralement en trois stades distincts, plus ou moins juxtaposés ou entrecoupés de périodes de latence. Le pronostic de guérison par antibiothérapie, quoique très favorable au début de l'infection, s'assombrit si la maladie est diagnostiquée et traitée à son troisième stade. L'évolution clinique est très variable d'un individu à l'autre (Pfister *et al.*, 1994). Environ 50 % des individus infectés par *B. burgdorferi* ne se souviennent pas de la piqûre de tique (Spach *et al.*, 1993), mais la plupart mentionnent avoir fréquenté des endroits reconnus endémiques pour *I. scapularis* (Steere *et al.*, 2004). La définition nosologique québécoise de la maladie de Lyme exige la présence d'un érythème migrant supérieur à 5 cm de diamètre ou la présence d'au moins une manifestation tardive, et une confirmation de laboratoire en deux étapes (test immunoenzymatique (EIA) positif suivi d'un Western blot positif) (MSSS, 2006). Une publication récente précise la démarche à respecter pour la confirmation par le laboratoire d'un cas de maladie de Lyme (Canadian Public Health Laboratory Network, 2007). Des discussions sont en cours au niveau canadien pour rendre la définition nosologique plus sensible, et par là, favoriser la déclaration de cas potentiels qui n'ont pas visité les sites endémiques déjà connus (Ogden, communication personnelle, 2008).

### **1.2.2 *Anaplasma phagocytophilum***

L'anaplasmose est causée par la rickettsie *A. phagocytophilum*. La maladie associée à cet agent fait partie du groupe des « ehrlichioses ». Le premier isolement de l'agent responsable de l'anaplasmose sur un patient a été effectué par Chen *et al.* (1994). Comme la borréliose de Lyme, l'anaplasmose est transmise par une piqûre de tique, tel que *I. scapularis* (Pancholi *et al.*, 1995). La tique acquiert ce micro-organisme en s'infectant sur un animal réservoir, principalement la souris à pattes blanches (*P. leucopus*) (Ravyn *et al.*, 2001). D'autres animaux sont importants pour le maintien du cycle naturel, comme le cerf de Virginie (Olano et Walker, 2002). Les symptômes (fièvre, céphalées, myalgies, leucopénie et élévation des enzymes hépatiques) débutent généralement de 1 à 2 semaines après la piqûre de tique. La maladie est généralement bénigne, mais un syndrome de détresse respiratoire, des dysfonctions rénales ainsi que des atteintes neurologiques ont été notés. La mortalité associée à cette infection pourrait varier de 1 à 10 % (Dumler et Bakken, 1995; Olano et Walker, 2002). Le diagnostic repose sur l'immunofluorescence indirecte, ou les analyses par PCR. Entre 1986 et 1997 aux États-Unis, il y a eu 449 cas d'anaplasmose diagnostiqués dans 10 États (McQuiston *et al.*, 1999). Un cas a été signalé au Québec en 2002. Il s'agissait

d'un enfant ayant été piqué par une tique dans le Parc-Nature du Cap-Saint-Jacques à Montréal (Buteau *et al.*, 2003).

### 1.2.3 Hantavirus

L'hantavirus est un virus de la famille des Bunyaviridés transmis à l'humain par certains rongeurs. Comme la maladie de Lyme, l'infection à hantavirus est à déclaration obligatoire. L'isolement du premier hantavirus (espèce Hantaan) a été effectué en Corée en 1976 (Lee *et al.*, 1978). Les symptômes associés varient selon le type de virus en cause. Les premiers hantavirus identifiés (Bobrava, Seoul et Puumala) étaient associés à un tableau de fièvre hémorragique avec syndrome rénal. En Amérique, on retrouve 12 types d'hantavirus (ex. : Seoul, Hantaan, New-York-1, Bayou, El Moro Canyon, Black Creek Canal, Sin nombre, Prospect Hill), dont six peuvent causer un syndrome de détresse respiratoire (Lindsay *et al.*, 2001). Les symptômes associés ressemblent à une grippe avec fièvre, frissons et myalgies. L'évolution clinique peut entraîner des difficultés cardiorespiratoires. La létalité est élevée.

Les réservoirs animaux d'hantavirus sont tous des rongeurs. L'hantavirus se transmet par voie aérienne lorsque les gens viennent en contact avec les fèces, l'urine ou la salive des animaux infectés. Chaque type d'hantavirus est associé à une espèce de rongeur. Dans le sud-ouest des États-Unis, le principal réservoir du virus Sin nombre est la souris sylvestre (*Peromyscus maniculatus*). Ce virus est bien distribué au Canada et au Québec. Le virus New-York-1 circule présentement dans l'est des États-Unis chez les populations de souris à pattes blanches (*Peromyscus leucopus*) (CDC, 1993). Un autre hantavirus apparemment non pathogène, Propect Hill, a été isolé chez le campagnol des champs (*Microtus pennsylvanicus*) au début des années 1980 (Lee *et al.*, 1985). Au Canada, seuls les virus Sin nombre et Prospect Hill seraient en circulation (Safronetz *et al.*, 2005). En 2000, on comptait 32 cas de syndrome pulmonaire à hantavirus acquis au Canada. Tous provenaient de la Colombie-Britannique, de l'Alberta, de la Saskatchewan ou du Manitoba, avec un taux de mortalité de 38 % (Lindsay *et al.*, 2001). Cependant, un cas humain d'infection à hantavirus causant un syndrome cardiopulmonaire a été signalé au Québec au printemps 2004 (Serhir *et al.*, 2004). Il s'agissait d'une infection acquise au printemps lors du nettoyage d'un chalet. La personne a probablement été infectée par l'inhalation de poussières contenant le virus. En 1995, au Québec, la prévalence des anticorps IgG dirigés contre le virus Sin nombre chez les rongeurs variait de 3 à 17 % selon les régions. La prévalence moyenne était de 7,4 % (Couillard *et al.*, 1995). Fait à noter, l'analyse phylogénétique (par RT-PCR) de virus isolés de certaines souris séropositives capturées en Gaspésie avait permis de déterminer que le virus isolé était la variante Monongahela de l'espèce Sin nombre (Couillard *et al.*, 1995).

## 2 MÉTHODOLOGIE

### 2.1 GÉNÉRALITÉS

Dans le but de répondre aux objectifs fixés, nous avons procédé à la collecte d'échantillons sur le terrain. Les échantillons visés étaient des tiques *I. scapularis* et des échantillons sanguins de souris capturées. Les deux principales méthodes de collecte d'échantillons ont été inspirées de la méthodologie utilisée par Lindsay *et al.* (2006) et Fournier (2006), c'est-à-dire le piégeage de petits mammifères et la méthode de la flanelle. Un examen minutieux des animaux capturés anesthésiés et euthanasiés ou non nous a permis de rechercher des tiques sur les hôtes et d'obtenir les échantillons sanguins nécessaires à l'étude. La méthode de la flanelle, quant à elle, nous a permis de récolter des tiques recherchant un hôte dans l'environnement. Par la suite, les espèces de tiques ont été identifiées, des analyses sérologiques et moléculaires ont été effectuées sur les souris et des analyses moléculaires ont été effectuées sur les tiques. Deux autres méthodes de collecte de tiques ont été explorées. L'une d'elles a été l'examen des rats laveurs et des mouffettes capturés dans le cadre des opérations de contrôle de la rage du raton laveur au Québec et l'autre, l'examen des chevreuils abattus enregistrés dans des stations d'enregistrement de la faune lors de la période de chasse.

### 2.2 PÉRIODE ET RÉGION D'ÉTUDE

Pour démontrer l'existence d'un site endémique pour une maladie transmise par un arthropode (soit, dans le cadre de cette étude, la maladie de Lyme transmise par *I. scapularis*), il est important de collecter des données tout au long de la période d'activité du vecteur. Les pics d'activité des différents stades de la tique *I. scapularis* varient dans le temps et le cycle de vie de la tique s'étend sur deux ans. Les activités de collecte de données sur le terrain se sont déroulées sur une période d'un peu plus de 5 mois : du 5 juin au 11 novembre 2007. Dans une première étape, la recherche de tiques sur les petits mammifères et sur la flanelle s'est faite du 5 juin au 4 octobre 2007. Puisque la possibilité de collecte des différents stades de la tique (larve, nymphe, adulte) varie entre juin et septembre, les sites sélectionnés devaient idéalement avoir la même probabilité d'être visités une fois tout au cours de la première étape. Cependant, les délais dans l'obtention des autorisations de visite des sites, ainsi que des facteurs météorologiques et logistiques, nous ont empêchés de suivre la séquence de visite préalablement déterminée au hasard. Pour cette raison, les sites identifiés ont été regroupés en 5 groupes à peu près égaux et la visite des sites s'est faite autant que possible dans chacun des groupes en rotation. Dans une deuxième étape, une recherche de tiques uniquement à l'aide de la flanelle a été effectuée jusqu'au 9 novembre 2007 sur certains sites pour diverses raisons, la principale étant la présence de tiques de stades immatures lors de la première visite. Dans un troisième temps, deux stations d'enregistrement de la faune ont été visitées les 3, 5, 10 et 11 novembre 2007. L'étendue de la période de collecte a donc permis de collecter des tiques sur une grande partie des périodes d'activité de chaque stade. Les dates exactes de la collecte des tiques sur les rats laveurs et les mouffettes nous sont inconnues. Par contre, il est certain que ces tiques ont été recueillies durant la période estivale 2007.

Les régions administratives visées par l'étude couvrent le sud-ouest du Québec, principalement la Montérégie et l'Estrie. Étant donné la documentation d'un cas humain d'anaplasmose causé par une piqûre de tique *I. scapularis* dans le Parc-Nature du Cap-Saint-Jacques à Montréal, en 2001 (Buteau *et al.*, 2003), Montréal a également été visée par la présente étude, mais avec un effort d'échantillonnage moindre.

Des chercheurs de l'Agence de la santé publique du Canada (ASPC) ont classé chacune des subdivisions de recensement (SDR) de ces régions selon leur niveau de risque d'établissement de populations de tiques (Ogden *et al.*, 2008b). Le niveau de risque est une valeur numérique obtenue par une équation de régression basée sur deux variables : la température moyenne au cours des 30 dernières années et une échelle d'abondance des tiques apportées par les oiseaux migrateurs à partir des populations connues dans les régions limitrophes. Pour le sud du Québec, des populations de tiques de l'Ontario et des États de la Nouvelle-Angleterre ont été considérées dans le modèle. Les SDR ont ensuite été classées selon quatre niveaux de risque : élevé (potentiel maximum d'établissement de populations de tiques); modéré (potentiel modéré d'établissement de populations de tiques); faible (établissement de populations de tiques peu probable); et « sans risque » (découverte de tiques apportées par des oiseaux, mais sans risque d'établissement de population). La présente étude a été réalisée dans des SDR à niveaux de risque élevé et modéré de la Montérégie, de l'Estrie et de Montréal.

### 2.3 CHOIX DES SITES D'ÉCHANTILLONNAGE

Un site est une placette mesurant 500 m par 150 m. Au total, 72 sites ont été identifiés pour les besoins de l'étude. De ce nombre, 41 sont situés dans la zone de risque élevé (40 en Montérégie et 1 à Montréal) et 31, dans la zone de risque modéré (14 en Montérégie, 16 en Estrie et 1 à Montréal).

Parmi les 72 sites (tableau 1), six sont des sites où des tiques avaient été trouvées en 2005 dans le cadre d'une étude épidémiologique sur les zoonoses transmises par les tiques par Fournier (2006). Deux autres sites ont été choisis parce que nous avons jugé pertinent de les visiter : l'un situé dans l'ouest de Montréal, au Parc-Nature du Cap-Saint-Jacques, où un cas humain d'anaplasmose a été rapporté dans le passé (Buteau *et al.*, 2003) et l'autre, à Barnston Ouest, où un cas humain probable de borréliose de Lyme, sans histoire de voyage à l'extérieur du Québec, a été rapporté (Ménard, Direction de santé publique de l'Estrie, communication personnelle, 2007). Soixante-quatre autres sites ont été sélectionnés à l'aide d'un système d'information géographique (SIG) (ESRI®, ArcGIS 9.2, 1999-2006). L'unité géographique de ces 64 sites est la SDR.

**Tableau 1 Catégories de sélection de SDR**

Catégorie de sélection	Nombre	SDR
Sites visités en 2005 (Fournier, 2006)	6	Châteauguay, Saint-Bruno (deux sites), Hemmingford, Saint-Hubert, Dundee
Cas humains rapportés	2	Montréal, Barnston Ouest
Sélection aléatoire à l'aide d'un SIG	64	SDR de Montérégie, Estrie et Montréal
<b>Total</b>	<b>72</b>	

Plusieurs critères ont permis de choisir les sites. Tout d'abord, les SDR ont été sélectionnées en fonction de leur niveau de risque d'établissement d'une population de tiques. Toutes les SDR du niveau de risque élevé ont été sélectionnées pour cette étude. Par la suite, les SDR du niveau de risque modéré ont été sélectionnées aléatoirement à l'aide des outils *Hawth's tools*, une extension d'ArcGIS. La localisation du site dans la SDR sélectionnée a été choisie en fonction d'un protocole défini.

### **2.3.1 La sélection de la superficie forestière**

Le site devait se trouver dans une zone forestière composée de feuillus uniquement ou de feuillus et de conifères. La superficie de la zone forestière devait être supérieure ou égale à 0,5 km<sup>2</sup>, être située à l'intérieur de la SDR et non séparée par une barrière naturelle (ex. : cours d'eau). Cette superficie et le type de couvert forestier ont été identifiés et calculés à partir des images de l'observation de la Terre classifiées pour le développement durable des forêts (OTDD) (Ressources naturelles Canada, [http://www.pfc.cfs.nrcan.gc.ca/monitoring/Saforah/index\\_f.html](http://www.pfc.cfs.nrcan.gc.ca/monitoring/Saforah/index_f.html)). Lorsqu'une superficie était inférieure à 0,5 km<sup>2</sup> dans la SDR, il était possible de fusionner la zone forestière de la SDR adjacente pour calculer la superficie totale de la forêt. Ceci permettait d'obtenir une superficie forestière de plus de 0,5 km<sup>2</sup>. Si cette dernière option était utilisée, la forêt de la SDR voisine ne pouvait être choisie par la suite. De plus, un site situé dans des zones forestières d'un peu moins de 0,5 km<sup>2</sup>, c'est-à-dire entre 0,4 et 0,5 km<sup>2</sup> environ, pouvait être sélectionné s'il n'y avait aucune autre zone forestière de la superficie requise. La SDR pouvait être exclue si elle ne correspondait à aucun des critères mentionnés ci-haut. La superficie était le seul critère pouvant être ajusté dans ce protocole.

### **2.3.2 La sélection du type de peuplement forestier**

Après avoir sélectionné les SDR et choisi les zones forestières, le type de peuplement forestier a été évalué à l'aide des données du système d'information écoforestière (SIEF) du troisième programme d'inventaire du ministère des Ressources naturelles et de la Faune (ministère des Ressources naturelles et de la Faune, 2003). Les peuplements favorisés étaient, en ordre croissant, les érablières, les peuplements de feuillus tolérants autres que les érablières (ormais et bétulaies) et les peuplements mixtes. Les zones forestières composées uniquement de conifères étaient exclues. De plus, un site était aussi préféré lorsqu'il n'était couvert que par un seul peuplement. Si les caractéristiques du peuplement forestier ne permettaient pas l'atteinte des critères de sélection, la SDR était exclue.

### **2.3.3 L'emplacement et l'accessibilité du site**

L'emplacement final de la placette a été déterminé selon son accessibilité et l'évaluation des obstacles à la survie des tiques. L'accessibilité a été évaluée à l'aide des fichiers numériques des routes et cours d'eau (DMTI Spatial Inc., <http://dmtispatial.com/>) et des orthophotographies (ministère des Ressources naturelles et de la Faune, 1999-2000). Les orthophotographies nous ont également permis d'évaluer des obstacles à l'échantillonnage sur le terrain ou des habitats que nous pensions peu propices à la survie des tiques tels que les milieux humides et les zones déboisées. Il est à noter que des informations sur le drainage du sol étaient aussi disponibles par le SIEF (des Ressources naturelles et de la

Faune, 2003) et que ces données étaient utilisées en cas de doute sur la présence d'un milieu humide. Les sites en bordure des routes ou des chemins ont été favorisés. Finalement, une carte de l'emplacement de la placette a été produite à l'aide des orthophotographies afin de permettre aux équipes de terrain de mieux se repérer une fois arrivées sur les lieux pour la pose des cages.

#### **2.3.4 Le processus de relocalisation des sites**

Par la suite, l'emplacement d'un site pouvait être modifié pour diverses raisons. La position du site pouvait être changée selon le plan cadastral de la municipalité. Par exemple, il pouvait être modifié selon la couverture des lots (ex : site déplacé de 90° afin de réduire le nombre de propriétaires du site). D'autres raisons ont mené à modifier la localisation géographique du site : un refus par un propriétaire ou un terrain qui a changé de vocation (ex : déboisement, inondation). S'il n'y avait aucune autre possibilité d'emplacement de la placette dans la SDR donnée, cette dernière pouvait être exclue et remplacée ou non par une autre SDR.

### **2.4 VISITES SUR LE TERRAIN : CAPTURE ET TECHNIQUE DE LA FLANELLE**

Les procédures sur le terrain ont été effectuées par deux équipes : l'une, composée d'une vétérinaire et d'une stagiaire en technique de santé animale et l'autre, d'une vétérinaire et d'un technicien en aménagement de la faune.

#### **2.4.1 Première visite**

Tous les membres de l'équipe de recherche (chercheurs et personnel de terrain) ont participé à une visite de terrain du 5 au 7 juin 2007 au Parc du Mont-Saint-Bruno. Cent cinquante pièges ont été disposés pendant deux nuits et les différentes procédures proposées ont été pratiquées. Cela a permis à tous de se familiariser avec l'équipement et les outils de collecte de données et d'uniformiser les procédures entre les deux équipes de terrain. Il est à noter que ce site faisait partie des 72 sites sélectionnés au départ.

#### **2.4.2 Capture et manipulation des petits mammifères**

Les petits mammifères ont été piégés en une ou deux nuits selon leur abondance, dans l'optique d'échantillonner au moins 15 souris du genre *Peromyscus* par site. Il a été déterminé que ce nombre de souris était suffisant pour permettre, avec une puissance de 80 %, de retrouver, sur un site donné, une souris infectée par *B. burgdorferi* (sérologie positive) si la prévalence de l'infection, sur ce site, était d'au moins 5 %. Dans les sites reconnus endémiques, la prévalence d'infection chez les souris demeure généralement supérieure à cette valeur (Lindsay *et al.*, 1997; Ogden *et al.*, 2007). Un maximum de deux nuits de piégeage par site a été prévu, même si le nombre de captures était inférieur à 15. Sur un site donné, le nombre de captures a tendance à diminuer pour chaque nuit additionnelle de piégeage (Lindsay, communication personnelle, 2007).

Sur chacun des sites, 150 cages de type Sherman (pour capture vivante) ont été disposées à 10 m d'intervalle sur trois transects de 50 pièges, séparés d'environ 25 à 50 m. Les cages ont été installées l'après-midi et relevées tôt le lendemain matin. Les pièges à captures

vivantes ont été préférés puisque les tiques ont tendance à quitter leur hôte rapidement après la mort de ce dernier (Smith, 1944) et des animaux vivants sont nécessaires pour des prélèvements sanguins efficaces. Les pièges ont été appâtés avec des graines de tournesol avec ou sans beurre d'arachide.

Les animaux capturés ont été déposés dans un contenant en plastique et anesthésiés à l'aide d'une ouate imbibée d'isoflurane (<sup>P</sup>r Isoflurane USP 99,9 %). L'anesthésie a permis l'examen de la peau pour la recherche de tiques et le prélèvement sanguin. Tous les petits mammifères, sauf exception, ont fait l'objet d'un examen pour la présence de tiques alors que seules les souris (*Peromyscus*) ont subi un prélèvement sanguin suivi d'une euthanasie, puisque ce sont ces souris qui sont considérées comme le réservoir principal de *B. burgdorferi*. Les tiques présentes sur les animaux ont été prélevées à l'aide de pinces à pointes fines et déposées dans un tube à échantillon contenant de l'alcool éthylique 70 %. Le prélèvement de sang des souris a été réalisé à l'aide de la méthode du saignement rétro-orbital ou de la ponction cardiaque. Un volume d'environ 500 µl de sang a été prélevé, déposé dans un tube avec anticoagulant (EDTA), conservé au frais dans des glacières remplies d'accumulateurs de froid (ex. : Ice-Pak) et centrifugé par la suite. Les échantillons de plasma ont été conservés dans un congélateur à -20 °C jusqu'à ce qu'ils soient envoyés au Laboratoire national de microbiologie (LNM) à Winnipeg pour analyse sérologique. Lorsque les manipulations sur les animaux étaient terminées, les animaux non euthanasiés étaient relâchés dans leur milieu. Les souris du genre *Peromyscus* ont été euthanasiées par surdose d'isoflurane ou dislocation cervicale. Si le nombre de captures était supérieur à 15, certaines souris étaient relâchées après l'examen externe, sans avoir à subir de prélèvement sanguin et d'euthanasie. Le nombre maximal de prélèvements et d'euthanasie dans ces cas variait d'un site à l'autre selon le temps disponible dans la journée et le volume de sang obtenu pour chacun des échantillons. Par exemple, pour un site où le volume de la plupart des échantillons était faible, il a pu être jugé nécessaire de prélever du sang sur un plus grand nombre de souris afin d'être certains d'obtenir au moins 15 échantillons sanguins analysables. Les animaux morts ont été placés dans des glacières remplies d'accumulateurs de froid jusqu'à ce qu'ils puissent être conservés dans le congélateur à -20 °C. Certains animaux autres que ceux du genre *Peromyscus* sont morts dans les cages avant notre arrivée ou lors de l'anesthésie. Ces animaux ont aussi été conservés de la même façon que les souris du genre *Peromyscus*. Différentes données morphologiques ont été notées sur les animaux capturés. La feuille de notes utilisée pour inscrire les différentes données des animaux capturés est présentée dans l'annexe 1.

### 2.4.3 Description du site

Les caractéristiques de la végétation ont été notées pour chaque site visité. L'évaluation de la végétation a été faite sur le transect central de la placette. Les espèces d'arbres, d'arbustes et de plantes au-dessus des cages #1, 5, 10, ..., 50, dans un rayon d'environ deux mètres, ont été notées. Les outils utilisés pour aider à l'identification des différentes espèces étaient : *La petite flore du Québec* (Rouleau *et al.*, 1990) et *Arbres et plantes forestières du Québec et des Maritimes* (Leboeuf, 2007). Par la même occasion, l'aspect du relief, le niveau d'humidité, la profondeur approximative de la litière, la composition approximative du sol et les journées de pluie ont été notées. De plus, les coordonnées géographiques ont été

identifiées à l'aide d'un GPS (Garmin/GPS60) au début et à la fin du transect central. La feuille de notes utilisée pour inscrire ces observations est présentée dans l'annexe 1.

#### **2.4.4 Collecte des tiques dans l'environnement**

Les tiques cherchant un hôte dans l'environnement ont été obtenues à l'aide de la méthode de la flanelle. Cette méthode impliquait de traîner un morceau de flanelle blanche d'une dimension de 1 mètre par 1 mètre sur le sol et la végétation basse entre les trois transects de pièges. Les tiques accrochées à la flanelle ont été récoltées et conservées dans l'alcool éthylique 70 %. Cette technique a été utilisée en deux étapes au cours de la période d'étude. La première étape consistait à passer la flanelle lorsque le site était visité pour la capture des rongeurs. Sauf exception pour un petit nombre de sites, l'effort accordé lors de cette étape a été de 2 à 3 personnes-heures par site. Étant donné qu'il est plus rare de récolter le stade adulte de la tique durant les mois de juin à septembre, il a été jugé utile de retourner passer la flanelle sur certains sites en octobre, afin d'obtenir des tiques adultes (deuxième étape). Les sites retenus étaient les sites où des larves ou nymphes d'*I. scapularis* avaient été recueillies lors de la première phase ou des sites où la flanelle n'avait pu être passée lors de la première étape. Certains sites identifiés n'ont pu être revisités à cause du danger que pouvait représenter la possibilité de chasse dans le secteur ou à cause du manque de temps. Sauf exception, un effort de 3 à 4 personnes-heures a été fourni par site lors de cette phase.

#### **2.4.5 Méthodes exploratoires de recherche de tiques**

Dans le but de vérifier l'utilité d'autres méthodes de collecte de tiques, deux autres moyens ont été explorés. Tout d'abord, nous avons demandé au personnel affecté aux opérations dans le cadre de la surveillance de la rage du raton laveur de récolter des tiques sur les ratons laveurs et les moufettes. Une boîte contenant le matériel et les informations nécessaires leur avait été fournie. Une technicienne de notre équipe de terrain a aussi participé aux opérations pendant quelques journées. Les tiques ont été collectées et conservées de la même façon que pour les tiques provenant des petits mammifères. Comme le personnel du programme de surveillance de la rage du raton laveur était très occupé, la collecte de tiques n'a pas pu être faite de façon systématique et l'effort de recherche nous est inconnu. De plus, nous n'avons aucune information sur le nombre de ratons laveurs et de moufettes examinés.

Une autre méthode explorée pour la recherche de tiques a été la visite de stations d'enregistrement de la faune lors de la période de chasse des cerfs de Virginie. Deux stations ont été visitées par deux vétérinaires de l'équipe terrain; l'une située à Granby et l'autre, à Saint-Jean-sur-Richelieu. Granby est située dans la zone de chasse 6 nord où la chasse à l'arme à feu débutait le 3 novembre. Cette station a été visitée les 3 et 5 novembre 2007. La deuxième station a été visitée les 10 et 11 novembre 2007. Cette station est située dans la zone 8 nord où la chasse à l'arme par chargement par la bouche débutait le 10 novembre. Le prélèvement et la conservation des tiques ont été réalisés comme décrit précédemment. L'examen des chevreuils a été très rapide. Si une tique était retrouvée sur un chevreuil, la durée de l'examen était généralement prolongée. Étant donné

que les chevreuils ne pouvaient être tournés de côté, les examens ont été faits sur le côté accessible seulement, généralement du bout du museau jusqu'au premier tiers du thorax.

## **2.5 CONSERVATION ET ENVOI DES ÉCHANTILLONS**

Les tiques conservées dans de l'alcool éthylique 70 % ont été envoyées régulièrement au LSPQ, puis au LNM, pour identification à l'espèce. Les échantillons de plasmas ont été envoyés au LNM par envoi aérien dans des glacières remplies d'accumulateurs de froid. Il y a eu trois envois d'échantillons de plasma au cours de la période d'étude. À la fin du mois d'octobre 2007, des bouts de queues de souris congelées ont été prélevés et conservés dans des tubes d'alcool éthylique 70 %. Ces échantillons ont été envoyés en un seul envoi par la poste au Laboratoire d'écologie moléculaire et évolution (LEMEE) de l'Université de Montréal pour identification à l'espèce des souris du genre *Peromyscus*. Également, une fois la période d'étude terminée, un total de 32 animaux congelés ont été envoyés au LNM dans des glacières remplies de glace sèche afin d'effectuer des analyses moléculaires utilisant la technique d'amplification génique (PCR) pour la recherche d'ADN de *B. burgdorferi* dans les tissus et de l'hantavirus.

## **2.6 LABORATOIRE**

### **2.6.1 Identification des espèces de souris du genre *Peromyscus***

L'identification des mammifères capturés sur le terrain a été réalisée à l'aide de caractères morphologiques pour la plupart des espèces. Cependant, les souris sylvestres et les souris à pattes blanches ne peuvent être différenciées morphologiquement. Pour distinguer les deux espèces, une technique d'identification basée sur l'ADN mitochondrial, réalisée au LEMEE a été utilisée. Cette méthode est flexible, car elle permet d'identifier des spécimens préservés dans l'éthanol et d'utiliser n'importe quels tissus (bout de queue, poils) pour en extraire l'ADN sans considération de l'état de conservation de l'animal (Tessier *et al.*, 2004).

### **2.6.2 Identification des tiques**

Dans la présente étude, les tiques ont été identifiées selon leurs caractères morphologiques par les experts du LSPQ. Une identification par des techniques moléculaires a également été réalisée au LNM pour confirmer l'identification morphologique de quelques spécimens immatures. Toutes les tiques ont été acheminées au LNM pour la recherche d'agents pathogènes (*Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*).

### **2.6.3 Sérologie**

Les analyses sérologiques des sérums de souris *Peromyscus* sp. pour la recherche d'anticorps contre *B. burgdorferi* et l'hantavirus ont été effectuées au LNM. Pour *B. burgdorferi*, un test d'immunofluorescence indirecte (IFA) a été effectué en premier lieu. Un test de confirmation par immunobuvardage de Western (« Western Blot », WB) a été réalisé lorsque le résultat de l'IFA était  $\geq 1 : 32$ . Un test ELISA a été utilisé pour rechercher la présence d'anticorps IgG dirigés contre l'hantavirus (dépistage initial à 1 : 100 et seuil de positivité fixé à 1 : 400).

#### **2.6.4 Recherche d'agents pathogènes**

Des tests d'amplification génique (PCR) ont également été réalisés au LNM dans le but de détecter la présence d'ADN de *B. burgdorferi* et *A. phagocytophilum* dans les tiques et les tissus (oreilles, cœur, rate, vessie) de certains spécimens animaux ciblés.

Les spécimens animaux ciblés sont : 1) ceux dont le plasma était positif (ELISA) pour l'hantavirus; 2) ceux dont le plasma était positif pour *B. burgdorferi*; (IFA et WB); 3) ceux dont le résultat de l'IFA était douteux, et le résultat du WB était négatif; 4) ceux dont le résultat de l'IFA était positif et le résultat du WB négatif, mais qui étaient parasités par une tique porteuse de *B. burgdorferi*; 5) ceux provenant d'un site où il y avait une tique positive pour *B. burgdorferi*, mais dont le plasma n'était pas disponible; et 6) 13 animaux dont le résultat IFA était négatif (contrôle).

#### **2.7 ANALYSES DESCRIPTIVES**

Les données ont été enregistrées dans divers chiffriers Excel (Microsoft® Office 2003). Ce rapport présente essentiellement une analyse descriptive des différentes variables. Cette analyse descriptive est présentée principalement sous forme de tableaux de fréquences et de cartes choroplèthes. Les différentes statistiques ont été générées à l'aide d'Excel (Microsoft® Office 2003) et d'Epi Info (Epi Info™ Version 3.4.3, 2007). Les cartes ont été produites à l'aide d'un SIG (ESRI®, ArcGIS 9.2, 1999-2006).

Dans un premier temps, les populations de tiques identifiées dans les différents sites visités ont été décrites. La distribution temporelle de ces tiques a aussi été évaluée. Deuxièmement, une description des espèces de tiques récoltées par chacune des méthodes de collecte a été effectuée. L'accent a, par la suite, été mis sur les populations d'*I. scapularis* afin d'obtenir un portrait de la distribution géographique du vecteur de la maladie de Lyme. Finalement, la distribution géographique des spécimens positifs pour chacun des agents pathogènes à l'étude a aussi été explorée.

Il est à noter que les caractéristiques des sites (ex. : végétation) ne seront pas présentées dans ce rapport. De plus, les analyses concernant la diversité génétique des souches de *B. burgdorferi*, étant réalisées dans le cadre d'une autre étude, ne sont pas décrites ici.

## 3 RÉSULTATS

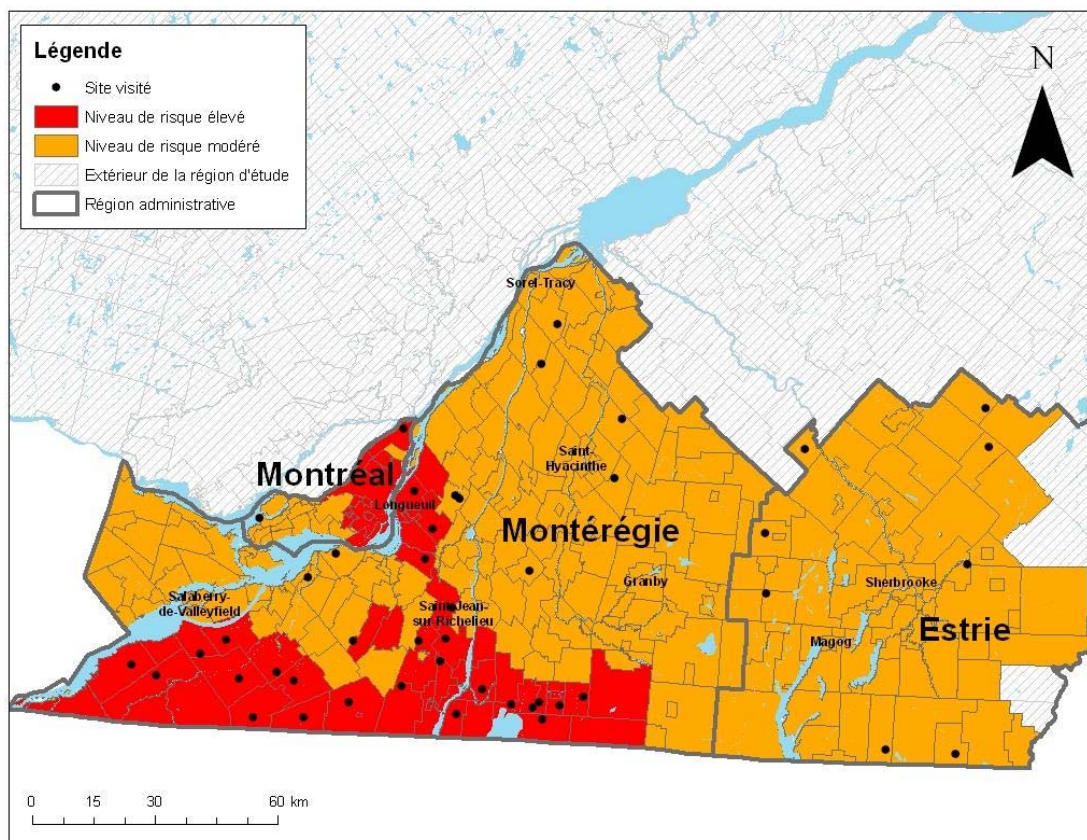
### 3.1 SITES VISITÉS

Dans l'ensemble, l'objectif visé pour le nombre de sites visités a été atteint à 64 %. Des 72 sites sélectionnés pour cette étude, 46 ont pu être visités au courant de la période d'étude (figure 1). Certains sites n'ont pas été visités pour diverses raisons : impossibilité de contacter le ou les propriétaires du site; refus des propriétaires de nous laisser un accès à leur terrain boisé; accès accordé, mais manque de temps pour la visite; inaccessibilité du site par les équipes de terrain une fois arrivées sur les lieux. À l'exception de deux sites situés dans la subdivision de recensement (SDR) de Saint-Bruno-de-Montarville, chaque site était situé dans une SDR différente. Il est à noter que les données des deux sites de Saint-Bruno-de-Montarville ont été additionnées ensemble pour la production des cartes de ce document. Dans l'ensemble, 28 des 41 (68 %) sites sélectionnés dans la zone de risque élevé d'établissement de populations de tiques et 18 des 31 (58 %) sites sélectionnés dans la zone de risque modéré ont été visités. Des 46 sites visités, six (13,0 %) étaient des lieux publics. Les 46 sites et les méthodes employées sur chacun de ces sites sont présentés dans l'annexe 2.

**Tableau 2 Proportion de sites échantillonnés sur les sites sélectionnés en fonction des régions et de leur niveau de risque**

Région	Risque	Nb sites identifiés	Nb sites visités	% de sites visités
Montérégie	Élevé	40	27	67
	Modéré	14	9	64
Estrie	Modéré	16	8	50
Montréal	Élevé	1	1	100
	Modéré	1	1	100
<b>Total</b>		<b>72</b>	<b>46</b>	<b>64</b>

Figure 1 Emplacement des 46 sites visités et des niveaux de risque



### 3.2 PETITS MAMMIFÈRES CAPTURÉS

Au total, 1 047 animaux ont été examinés pour la présence de tiques. Ces animaux proviennent de 45 des 46 sites visités. Nous avons capturé 710 (67,8 %) souris du genre *Peromyscus*, 71 (6,8 %) grandes musaraignes (*Blarina brevicauda*), 42 (4,0 %) musaraignes autres que la grande musaraigne (*Sorex* sp.), 113 (10,8 %) campagnols à dos roux (*Clethrionomys gapperi*), 2 (0,2 %) campagnols des rochers (*Microtus chrotorrhinus*), 27 (2,6 %) souris sauteuses (*Napaeozapus insignis* ou *Zapus hudsonius*), 65 (6,2 %) tamias rayés (*Tamias striatus*), 16 (1,5 %) écureuils roux (*Tamiasciurus hudsonicus*) et un (0,1 %) polatouche (*Glaucomys sabrinus*). Une analyse génétique d'identification à l'espèce a été effectuée pour 645 (90,8 %) des 710 souris *Peromyscus* capturées : 498 (77,2 %) furent identifiés comme étant des souris à pattes blanches (*P. leucopus*) et 147 (22,8 %), comme étant des souris sylvestres (*P. maniculatus*). L'analyse génétique d'identification à l'espèce n'a pas été effectuée pour les 65 autres souris (9,2 %), car elles avaient été relâchées dans leur milieu. Une différence notable dans la proportion de chacune de ces deux espèces a été observée selon la région. En effet, nous avons pu constater que *P. leucopus* semblait prédominer en Montérégie, alors que *P. maniculatus* semblait proportionnellement plus abondant en Estrie.

La masse a été notée chez 651 souris du genre *Peromyscus*. Dans l'ensemble, elles pesaient entre 8,0 et 34,5 g, avec une masse moyenne de 17,7 g (écart-type : 4,3). Plus spécifiquement pour chaque espèce, la masse moyenne des *P. leucopus* était de 18,3 g (écart-type : 4,3, minimum : 8,0, maximum : 34,5) et la masse moyenne des *P. maniculatus* était de 15,8 g (écart-type : 3,3, minimum : 9,0, maximum : 29,5).

Parmi les 690 souris où la catégorie d'âge a été notée, 9,8 % des *P. leucopus* étaient des juvéniles; 30,1 %, des subadultes; et 60,0 % des adultes. Du côté des *P. maniculatus*, 29,3 % étaient des juvéniles; 44,2 %, des subadultes; et 26,5 %, des adultes.

Le sexe a été noté chez 684 souris. Les femelles et les mâles représentaient respectivement 43,2 % et 56,8 % chez les *P. leucopus* et 46,9 % et 53,1 % chez les *P. maniculatus*. Parmi les *P. leucopus*, 45,1 % des femelles et 82,0 % des mâles étaient considérés à un stade de reproduction active. 27,9 % des femelles étaient gestantes et 37,7 %, en lactation. Du côté des *P. maniculatus*, 21,7 % des femelles et 37,2 % des mâles étaient considérés à un stade de reproduction active. Parmi les femelles, 16 % des femelles étaient gestantes et 17 % étaient en lactation.

### **3.3 TIGUES COLLECTÉES**

#### **3.3.1 Ensemble des tiques**

Dans le cadre de cette étude, 717 tiques ont été obtenues : 443 ont été collectées grâce à la technique de la flanelle (355 en été et 88 en automne); 123, à l'examen des petits mammifères capturés; 115, à l'examen des chevreuils et d'un coyote dans des stations d'enregistrement de la faune; et 36, lors des opérations de contrôle dans le cadre des activités de surveillance de la rage du raton laveur au Québec (18 provenant de rats laveurs et 18, de moufettes) (tableau 3). Parmi l'ensemble de ces tiques, l'espèce la plus fréquemment collectée était *Ixodes scapularis* (49,2 %). Au total, 353 tiques de cette espèce ont été obtenues : 120 (35 en été et 85 en automne), 118 et 115 respectivement grâce à la technique de la flanelle, à la capture de petits mammifères et à la visite de stations d'enregistrement de la faune. Aucune tique de cette espèce n'a été collectée sur les rats laveurs et les moufettes. Le stade adulte est celui qui était le plus fréquemment collecté (58,1 %), suivi des larves (28,0 %) et des nymphes (13,9 %) (tableau 4). Il est à noter que *Haemaphysalis leporis-palustris* est la deuxième espèce de tiques la plus souvent collectée avec une majorité de larves (85,6 %). Les tiques de cette espèce ont toutes été obtenues par la technique de la flanelle.

**Tableau 3 Fréquence de tiques collectées par méthode de collecte en fonction de l'espèce**

Espèce \ Méthode	Capture	Flanelle	Raton laveur/Moufette	Station d'enregistrement de la faune	Total
<i>Dermacentor variabilis</i>	0	30	0/0	0	30
<i>Haemaphysalis leporis-palustris</i>	0	292	0/0	0	292
<i>Ixodes cookei</i>	0	0	12/18	0	30
<i>Ixodes marxi</i>	3	0	6/0	0	9
<i>Ixodes muris</i>	0	1	0/0	0	1
<i>Ixodes scapularis</i>	118	120	0/0	115*	353
<i>Ixodes sp.**</i>	2	0	0/0	0	2
<b>Total</b>	<b>123</b>	<b>443</b>	<b>8/18</b>	<b>115</b>	<b>717</b>

\* Une tique a été observée sur un coyote

\*\* Tiques trop détériorées pour être identifiées à l'espèce.

**Tableau 4 Fréquence de tiques par stade en fonction de l'espèce**

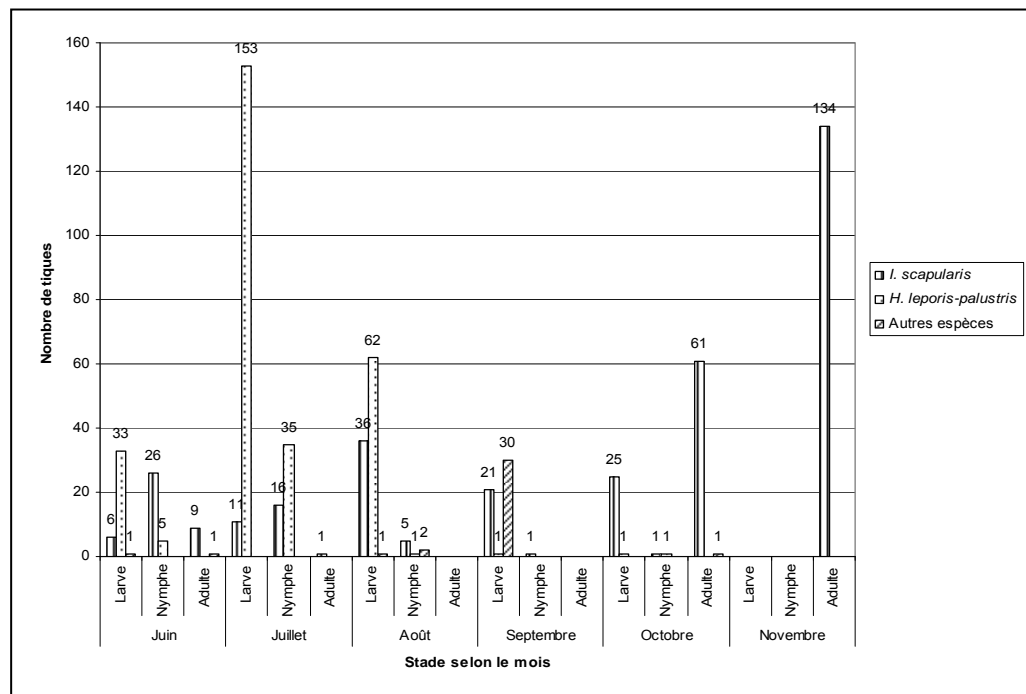
Espèce \ Stade	Larve	Nymphe	Femelle	Mâle	Total
<i>D. variabilis</i>	30	0	0	0	30
<i>H. leporis-palustris</i>	250	42	0	0	292
<i>I. cookei</i>	2	26	2	0	30
<i>I. marxi</i>	0	5	4	0	9
<i>I. muris</i>	0	0	1	0	1
<i>I. scapularis</i>	99	49	78	127	353
<i>Ixodes sp.*</i>	2	0	0	0	2
<b>Total</b>	<b>383</b>	<b>122</b>	<b>85</b>	<b>127</b>	<b>717</b>

\* Tiques trop détériorées pour être identifiées à l'espèce.

### 3.3.2 Saisonnalité

Les stades retrouvés semblent suivre un certain patron saisonnier (figure 2). *H. leporis-palustris* a été plus souvent retrouvé en juin, juillet et août avec une proportion toujours plus élevée du stade larvaire. Le mois démontrant la fréquence la plus élevée de nymphes de cette espèce est juillet. Les larves de *D. variabilis* n'ont été retrouvées qu'en septembre. Il est important de mentionner que tous les spécimens de cette dernière espèce provenaient d'un seul site.

**Figure 2** Nombre de tiques par stade et espèce selon le mois, excluant les tiques collectées sur les rats laveurs et les moufettes.



\* Autres espèces : une larve *Ixodes* sp. et un adulte *Ixodes marxi* en juin, une larve *Ixodes* sp. et deux nymphes *I. marxi* en août, 30 larves *D. variabilis* en septembre et un adulte *I. muris* en octobre.

L'espèce retrouvée de façon plus constante au cours de l'étude est *I. scapularis* avec une saisonnalité bien marquée au niveau de la répartition des stades : 86 % des nymphes ont été retrouvées en juin et juillet, 83 % des larves, en août, septembre et octobre et 95,1 % des adultes, en octobre et novembre (figures 3 et 4). Les tiques adultes provenaient principalement des chevreuils.

### 3.3.3 Méthodes de collecte des tiques

#### 3.3.3.1 Généralités

Certaines méthodes semblent privilégier la collecte de certaines espèces de tiques (tableau 3), ainsi que certains stades d'*I. scapularis* (tableau 5). En effet, 95,9 % des tiques obtenues par la capture et l'examen de petits mammifères étaient des *I. scapularis*. Cependant, aucune tique adulte de cette espèce n'a été obtenue par cette méthode. Il est

important de mentionner que 79,2 % des *I. scapularis* immatures collectés dans cette étude ont été obtenus par cette méthode.

Pour ce qui est de la technique de la flanelle, 65,9 % des tiques obtenues était des *H. leporis-palustris*. Par contre, 27,1 % des tiques obtenues étaient des *I. scapularis*, ce qui est non négligeable. Il est à noter que cette méthode a permis d'obtenir les trois stades d'*I. scapularis*, plus souvent des adultes retrouvés durant l'automne.

Contrairement aux méthodes précédentes, l'examen des rats laveurs et des mouffettes n'a permis d'obtenir que des tiques des espèces *I. marxi* et *I. cookei*. Finalement, l'examen des cerfs de Virginie abattus n'a donné que des *I. scapularis* adultes, en majorité des mâles (68,7 %).

En résumé, la capture de petits mammifères nous a permis d'obtenir des larves et des nymphes *I. scapularis*; la flanelle, les trois stades; et l'examen de cerfs de Virginie, des adultes uniquement.

**Tableau 5** Fréquence de tiques *I. scapularis* par méthode de collecte en fonction du stade de la tique

Méthode Stade	Capture	Flanelle	Opérations Raton	Chevreuil	Total
Larve	85	14	0	0	99
Nymphe	33	16	0	0	49
Femelle	0	42	0	36	78
Mâle	0	48	0	79	127
<b>Total</b>	<b>118</b>	<b>120</b>	<b>0</b>	<b>115*</b>	<b>353</b>

\* Une tique a été observée sur un coyote.

### 3.3.3.2 Méthode de la capture des petits mammifères

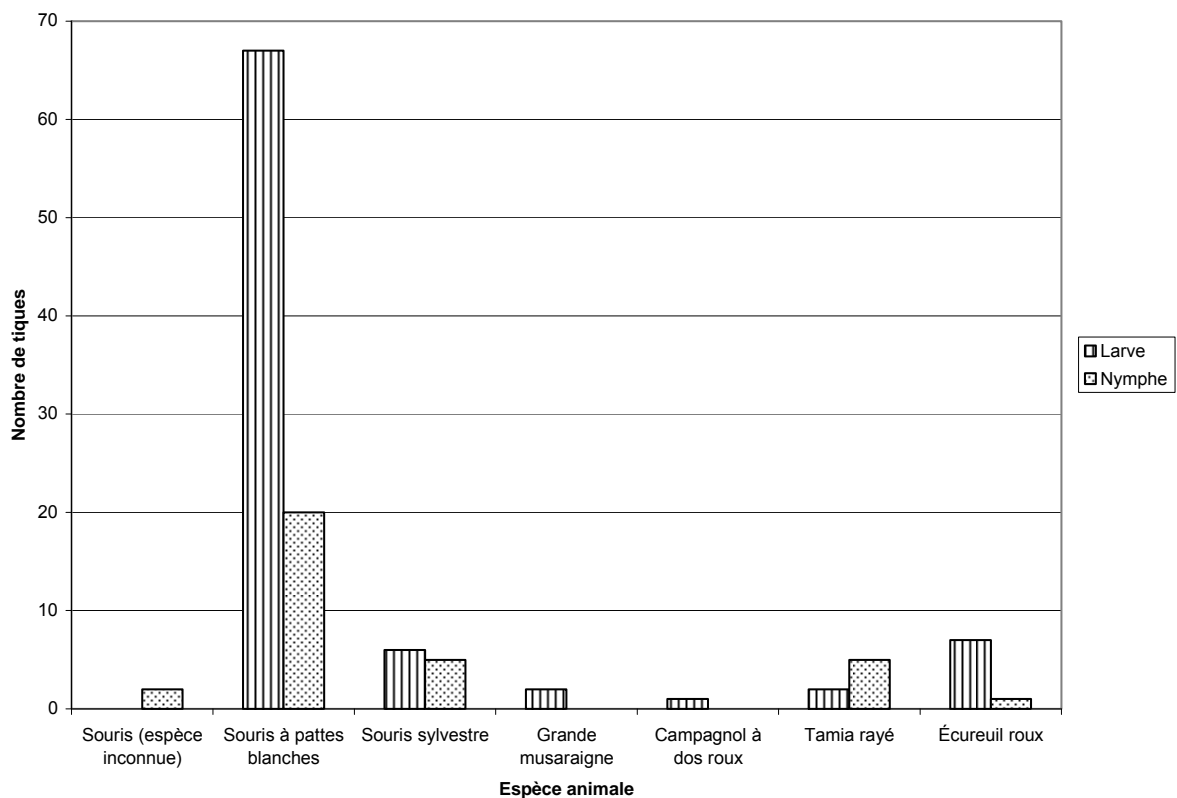
Dans l'ensemble de la région d'étude, 77 animaux capturés (7,4 %) étaient parasités par au moins une *I. scapularis*. Une grande proportion des *I. scapularis* (73,7 %) ont été observés sur des souris à pattes blanches (tableau 6). Seulement 9,3 % de ces tiques parasitaient des souris sylvestres. Les espèces animales présentant les proportions les plus élevées d'animaux parasités par au moins une *I. scapularis* sont : l'écureuil roux (25 %), la souris à pattes blanches (10,8 %), la souris sylvestre (6,8 %) et le tamia rayé (8 %).

**Tableau 6** Fréquence de tiques obtenues par espèce animale capturée en fonction de l'espèce de la tique

Espèce de tique \ Espèce animale	Espèce animale											
	Souris à pattes blanches ( <i>P. leucopus</i> )	Souris sylvestre ( <i>P. maniculatus</i> )	<i>Peromyscus</i> sp.	Grande musaraigne	Autre musaraigne	Campagnol à dos roux	Campagnol des rochers	Souris sauteuse	Tamia rayé	Écureuil roux	Polatouche	Total
<i>I. marxi</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	3
<i>I. scapularis</i>	87	11	2	2	0	1	0	0	7	8	0	118
<i>Ixodes</i> sp. *	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
<b>Total</b>	<b>88</b>	<b>12</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>7</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>123</b>

\* Tiques trop détériorées pour être identifiées à l'espèce.

**Figure 3** Fréquence d'*I. scapularis* collectés par espèce animale selon le stade

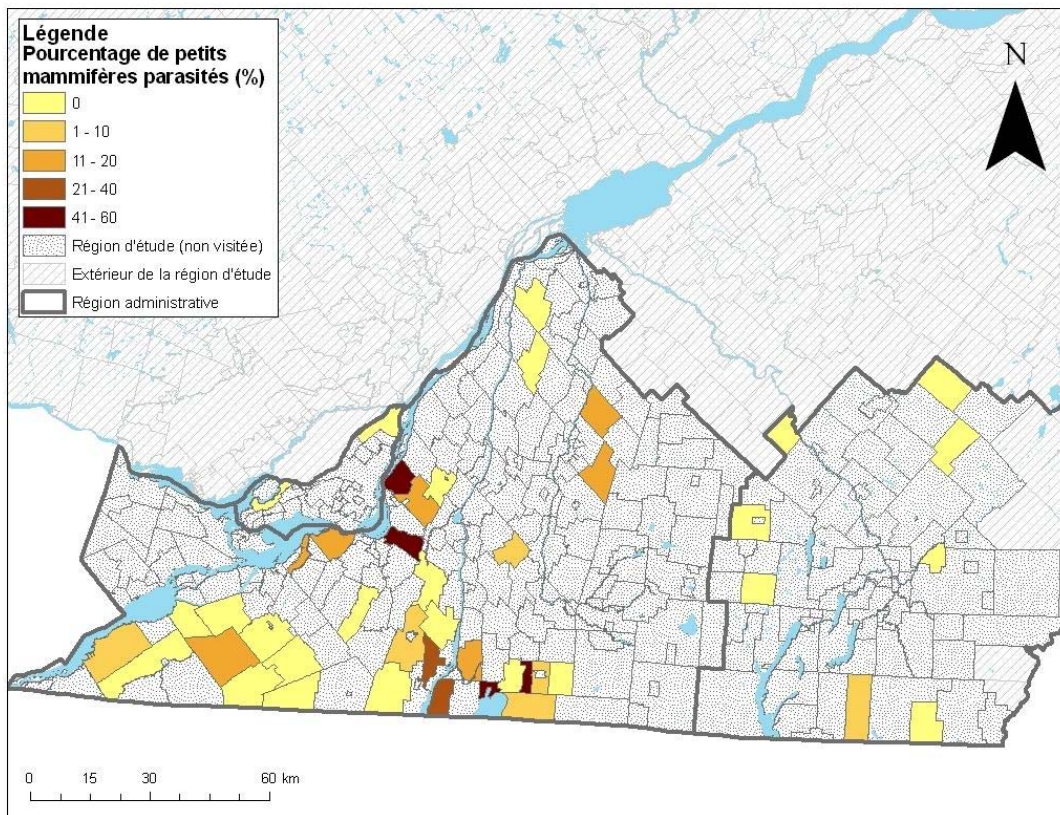


\* Cet histogramme exclut les espèces animales où aucune tique n'a été obtenue.

Le nombre de tiques par souris parasitée était d'une à sept (médiane : une). Il est à noter que sur les souris sylvestres, le nombre de larves et de nymphes retrouvées était comparable (respectivement 6 et 5), tandis que sur les souris à pattes blanches, les larves étaient plus nombreuses que les nymphes (respectivement 67 et 20).

Toutes les tiques *I. scapularis* obtenues (sauf une) ont été collectées dans des sites de la Montérégie (figure 4). Les proportions d'animaux parasités par au moins une tique sont plus élevées (entre 20 et 60 %) dans le secteur près de la frontière canado-américaine autour de la rivière Richelieu et dans le secteur de la rive sud du Fleuve Saint-Laurent entre Châteauguay et Longueuil. Des proportions notables d'animaux parasités (entre 10 et 20 %) ont aussi été retrouvées à Saint-Dominique et Saint-Simon, deux SDR voisines l'une de l'autre et à Ormstown. Dans ce dernier cas, aucune tique n'a été retrouvée dans les SDR contiguës visitées.

**Figure 4** Proportion d'animaux parasités par au moins une tique par SDR (méthode de la capture des petits rongeurs)



### 3.3.3.3 Méthode de la flanelle

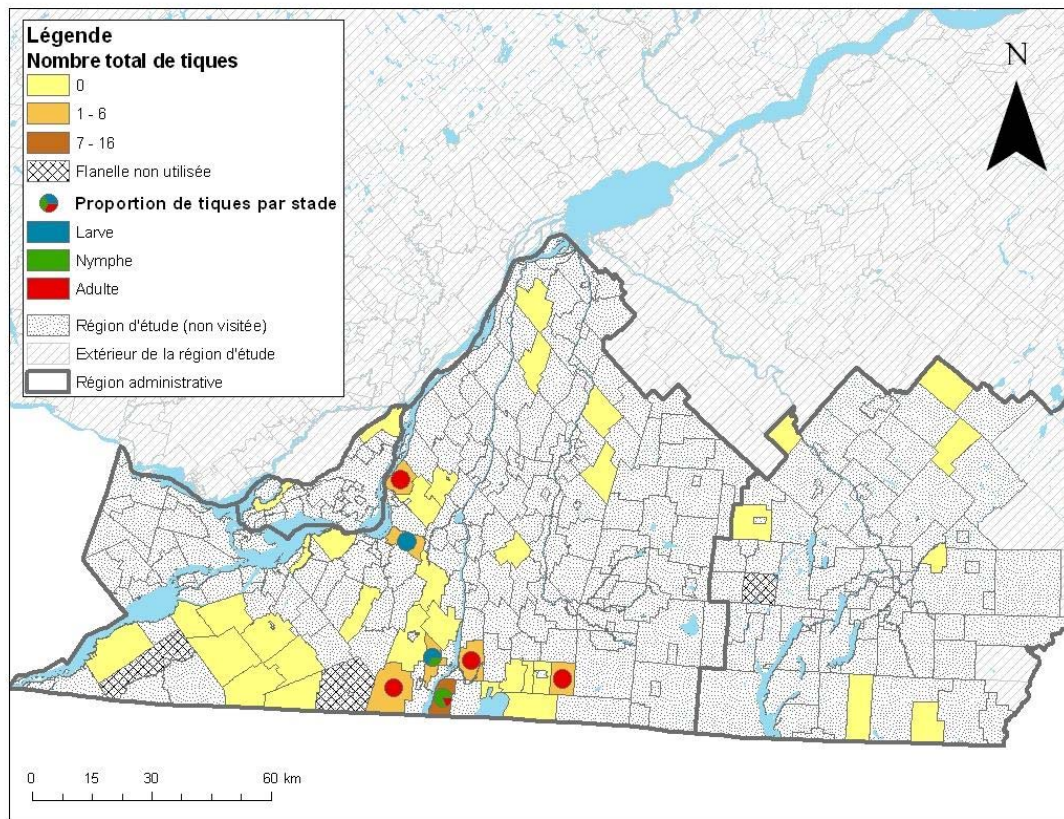
Lors de la première étape de l'étude (en été – en même temps que la capture de petits mammifères), la technique de la flanelle a été utilisée sur 43 des 46 sites visités. Cette méthode n'a pas été utilisée sur les sites d'Hemmingford, de Godmanchester et de Stukely pour diverses raisons, notamment la pluie. La technique de la flanelle a ensuite été

appliquée une deuxième fois à l'automne, sur 20 de ces 43 sites (deuxième étape). La flanelle a également été employée sur les sites d'Hemmingford et de Godmanchester lors de cette deuxième étape, portant ainsi le nombre de visites en automne à 22.

### Première étape (été)

Au cours de la première étape, 355 tiques ont été collectées à l'aide de la flanelle. Trente-cinq (9,9 %) étaient des *I. scapularis* : 10 larves; 15 nymphes; 7 mâles; 3 femelles (figure 5). Ces 35 tiques étaient réparties sur sept sites (16 %). Les tiques collectées provenaient surtout de sites autour de la rivière Richelieu, dans le centre-sud de la Montérégie près de la frontière canado-américaine. Le nombre maximal d'*I. scapularis* retrouvés dans un site était de 16. Parmi les sites de cette zone, les stades immatures de la tique n'ont été retrouvés que dans deux sites.

**Figure 5** Nombre de tiques *I. scapularis* obtenues à l'aide de la flanelle durant l'été (première étape de l'étude) et proportion selon le stade, par SDR

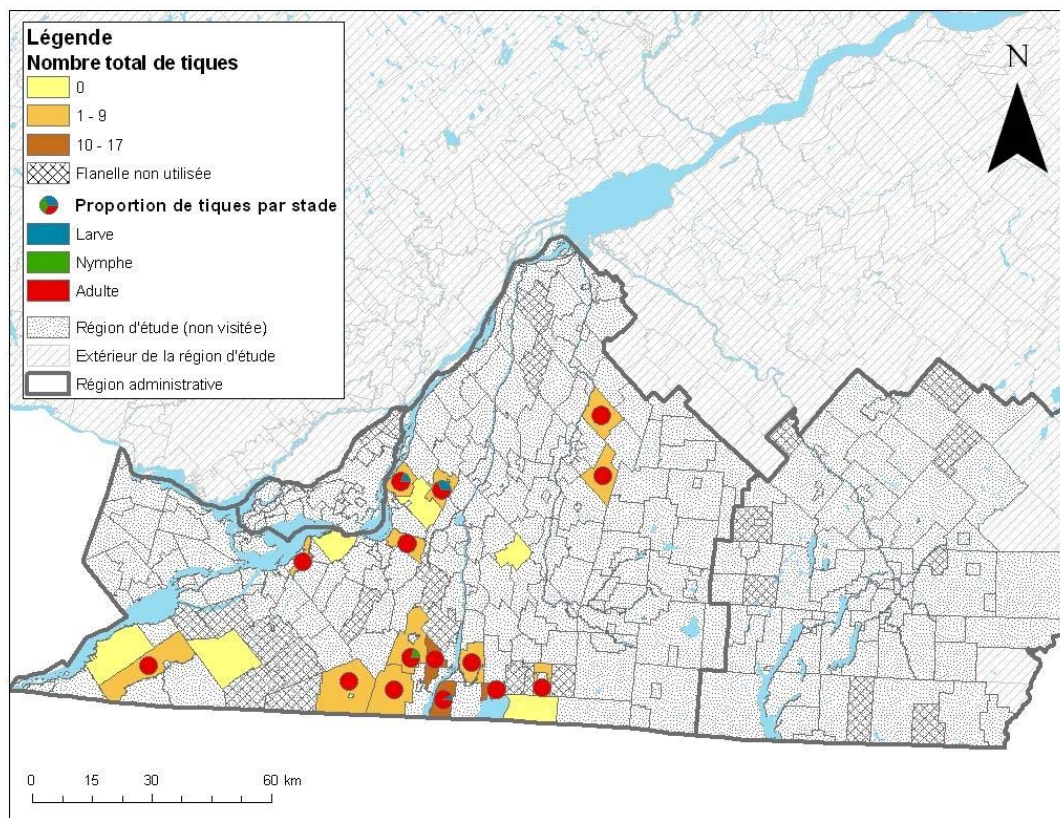


### Deuxième étape (automne)

Au cours de l'automne, 88 tiques ont été collectées à l'aide de la flanelle et 85 (97 %) de celles-ci ont été identifiées *I. scapularis* (4 larves, 1 nymphe, 41 mâles et 39 femelles). Ces dernières provenaient de 16 sites sur 22 (73 %) (figure 6). Le nombre maximal d'*I. scapularis* retrouvés dans un site était de 17. Parmi tous les sites revisités une deuxième fois, ceux où

nous retrouvons les fréquences les plus élevées de tiques se situent dans le secteur près de la frontière canado-américaine autour de la rivière Richelieu.

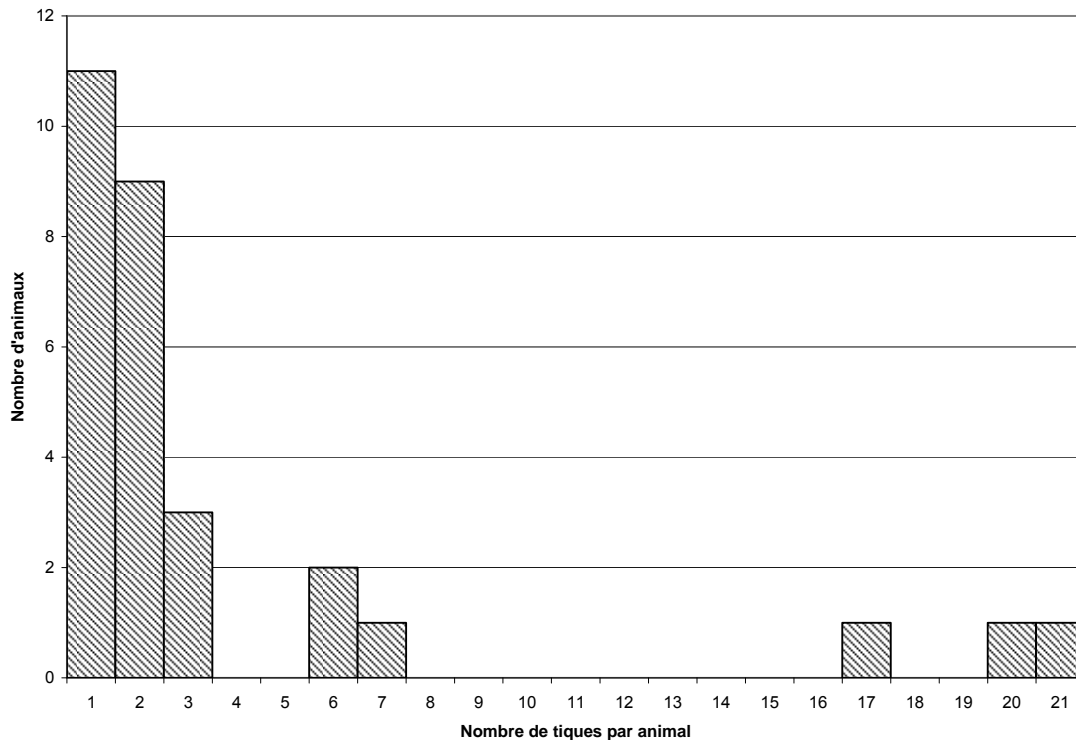
**Figure 6** Nombre de tiques *I. scapularis* obtenues à l'aide de la flanelle durant l'automne (deuxième étape de l'étude) et proportion selon le stade, par SDR



#### 3.3.3.4 Méthode de l'examen des cerfs de virginie en saison de chasse

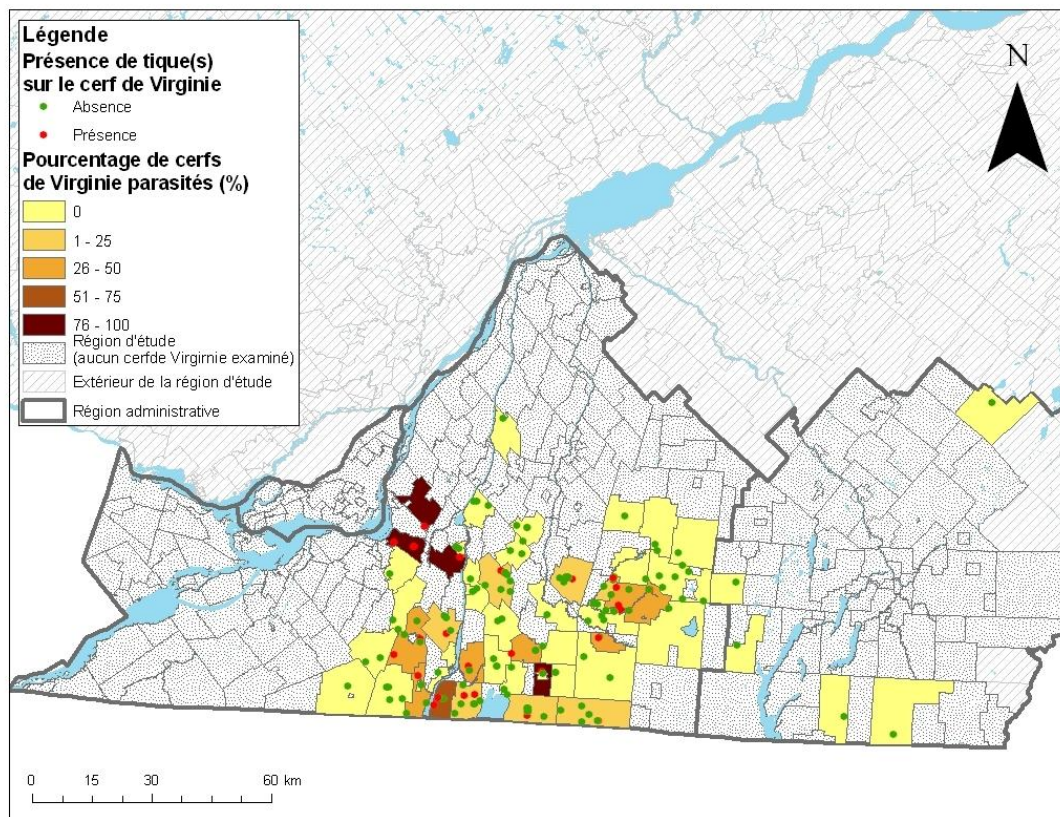
En quatre jours, 154 animaux (153 cerfs de Virginie et un coyote) ont été examinés pour la recherche de tiques : 48 à la station d'enregistrement située à Granby et 106 à la station d'enregistrement située à Saint-Jean-sur-Richelieu. Au total, 115 tiques, toutes des *I. scapularis* adultes, ont été collectées sur 28 (18,3 %) cerfs de Virginie et un coyote. En considérant uniquement les 29 animaux parasités, le nombre médian de tiques par animal était de deux tiques (minimum : 1, maximum : 21) (figure 7). Dans la distribution présentée à la figure 7, 17, 20 et 21 tiques par animal semblent être des valeurs extrêmes. Les chevreuils correspondant à ces valeurs provenaient de SDR situées dans le secteur près de la frontière canado-américaine autour de la rivière Richelieu et dans le secteur de la rive sud du Fleuve Saint-Laurent.

**Figure 7** Nombre d'animaux examinés aux stations d'enregistrement de la faune en fonction du nombre de tiques par animal parasité



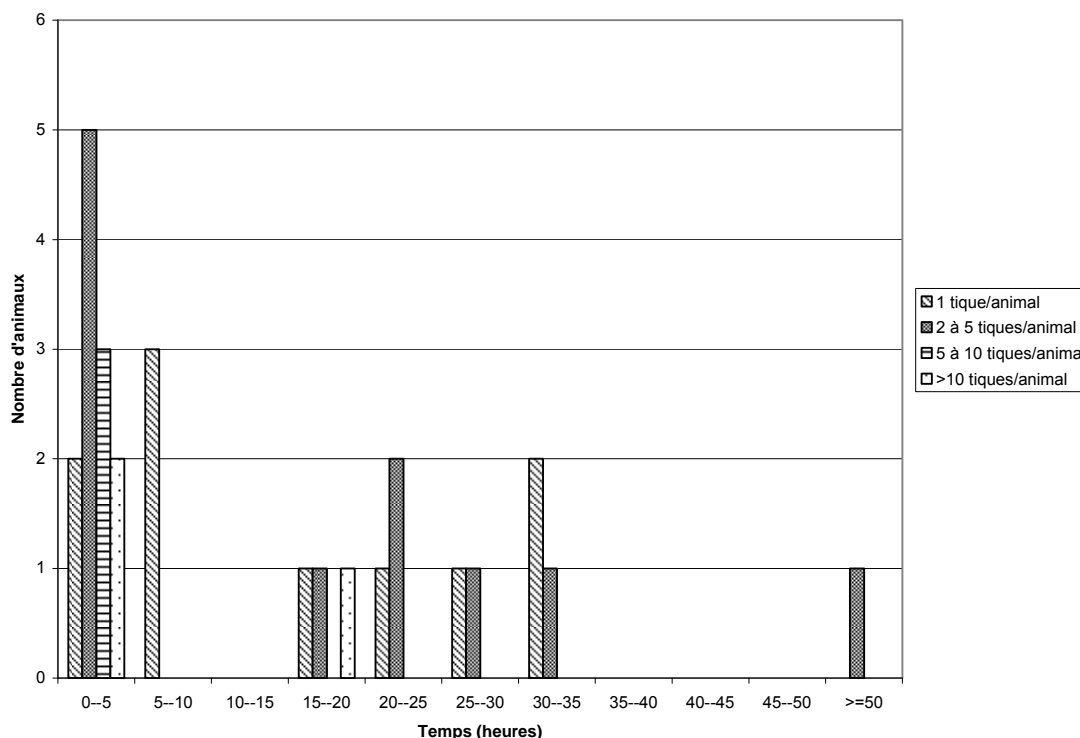
Parmi les 154 animaux, les coordonnées géographiques, ainsi que les données sur le sexe et l'âge de l'animal, ont pu être obtenues pour 144 (93,5 %), tous des cerfs de Virginie. Parmi ceux-ci, 119 (82,6 %) étaient des adultes; 25 (17,4 %), des juvéniles; 91 (63,2 %), des mâles; et 53 (36,8 %), des femelles. Une liste des SDR d'où provenaient les cerfs de Virginie est présentée dans l'annexe 2. Le nombre moyen de tiques par chevreuil dans une SDR donnée semblait être plus élevé dans les deux mêmes secteurs qui ont été décrits précédemment (figure 8). D'ailleurs, les chevreuils parasités par 17, 20 et 21 tiques (figure 7) proviennent de ces secteurs. En plus de ces deux régions, il semble y avoir une certaine présence de tiques dans le centre-est de la Montérégie, un secteur qui a été peu échantillonné par la sélection aléatoire pour la capture de petits mammifères. En effet, même si le nombre moyen de tiques par chevreuil dans ces SDR était plus faible que dans les deux secteurs décrites précédemment, il semble y avoir une certaine concentration de chevreuils parasités par au moins une tique. Aucune tique n'a été retrouvée sur les quelques chevreuils provenant de l'Estrie.

**Figure 8** Distribution géographique des cerfs de Virginie parasités et non parasités par *I. scapularis*



Le délai médian entre l'abattage et l'enregistrement des chevreuils était de 17,9 heures (minimum : 1,3 heures et maximum : 77,1 heures). Cependant, en ne considérant que les animaux parasités par au moins une tique, le délai médian entre l'abattage et l'enregistrement était de 6,8 heures (minimum : 3,2 heures, maximum : 51,5 heures). En fait, sur les 111 tiques où les données sur les délais étaient disponibles, 73 (65,2 %) ont été récoltées sur des animaux enregistrés moins de cinq heures après leur abattage. Plus le délai est long, moins il semble y avoir de tiques découvertes. Un fait intéressant à noter est que l'enregistrement des chevreuils parasités par 20 et 21 tiques s'était fait peu de temps après leur abattage, c.-à-d. entre 3 et 4 heures. Par contre, celui du chevreuil parasité par 17 tiques s'était fait près de 20 heures après son abattage (figure 9).

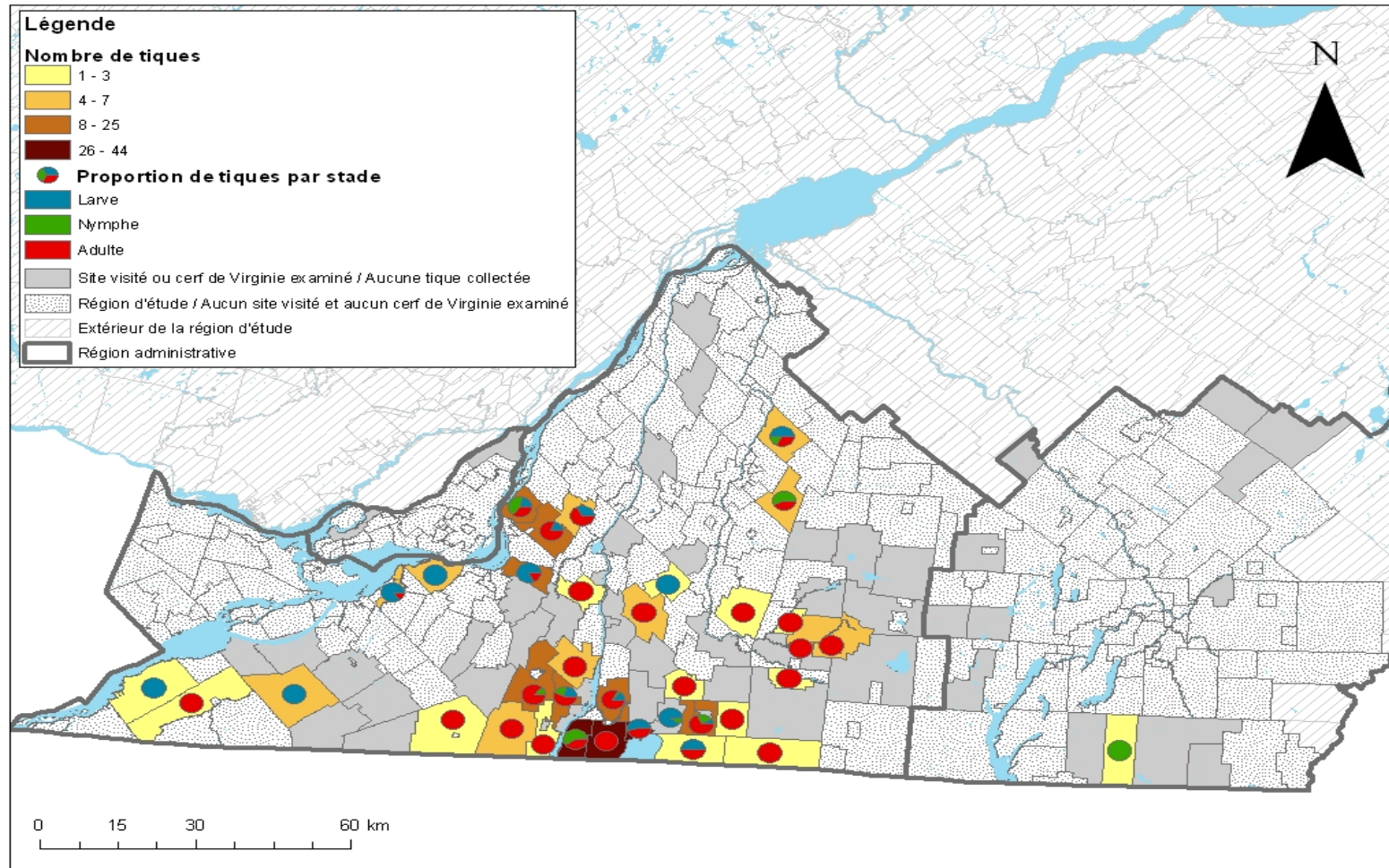
**Figure 9** Nombre d’animaux examinés par catégorie de nombre de tiques *I. scapularis* collectées par cerf de Virginie en fonction du délai entre l’abattage et l’enregistrement de l’animal, excluant les animaux non parasités



### 3.3.3.5 Toutes les méthodes confondues

La figure 10 présente le nombre total d’*I. scapularis* collectés au cours de la période d’étude 2007 (toutes méthodes confondues) et la proportion par stade pour les SDR présentant au moins une tique. Il est à noter que certaines proportions sont trop faibles pour être visibles dans les diagrammes circulaires de cette figure. Cette figure présente aussi les SDR visitées par nos équipes et les SDR d’où provenaient les chevreuils examinés et où aucune tique *I. scapularis* n’avait été retrouvée. Les zones présentant le plus grand nombre de tiques sont les secteurs : 1) près de la frontière canado-américaine autour de la rivière Richelieu et 2) rive sud du Fleuve Saint-Laurent entre Châteauguay et Longueuil. Plusieurs SDR de ces régions présentent au moins deux stades de la tique. Certaines SDR présentent même les trois stades. Ce sont les SDR de Noyan, Bedford, Saint-Valentin, Henryville et Longueuil. À l’écart de ces secteurs, il y a deux autres SDR, à proximité l’une de l’autre (Saint-Simon et Saint-Dominique), où au moins deux stades de la tique ont été retrouvés.

**Figure 10** Nombre total de tiques *I. scapularis* collectées par toutes les méthodes confondues et proportion selon le stade, par SDR



### 3.4 RÉSULTATS DE LABORATOIRE : PLASMAS, TIQUES ET TISSUS

Des plasmas ont été obtenus pour 586 des 710 souris *Peromyscus* capturées (82,5 %). Trois (0,5 %) de ces 586 plasmas analysés étaient positifs pour *B. burgdorferi* (agent étiologique de la maladie de Lyme) par les tests d'IFA et de WB. Deux de ces échantillons provenaient de Noyan (prélevés sur un *P. leucopus* et un *P. maniculatus*), où du plasma a été obtenu et testé pour 15 individus. Ces deux souris étaient toutes deux parasitées par une nymphe *I. scapularis* non porteuse de *B. burgdorferi*. L'autre spécimen positif pour la maladie de Lyme provenait de Saint-Valentin (*P. maniculatus*), où du plasma a été obtenu et testé pour six individus. Aucune tique n'a été retrouvée sur cette souris. Il est à noter que ces deux SDR sont situées à proximité l'une de l'autre (figure 11).

Au total, le test ELISA a détecté l'hantavirus chez cinq souris (0,9 %). Deux spécimens positifs sur les 28 plasmas obtenus et testés (2/28) provenaient d'Ormstown (*P. maniculatus*); 1/15, de Très-Saint-Sacrement (*P. leucopus*); et 2/15, de Dixville (*P. maniculatus*). Il est à noter qu'Ormstown et Très-Saint-Sacrement sont deux SDR voisines (figure 11).

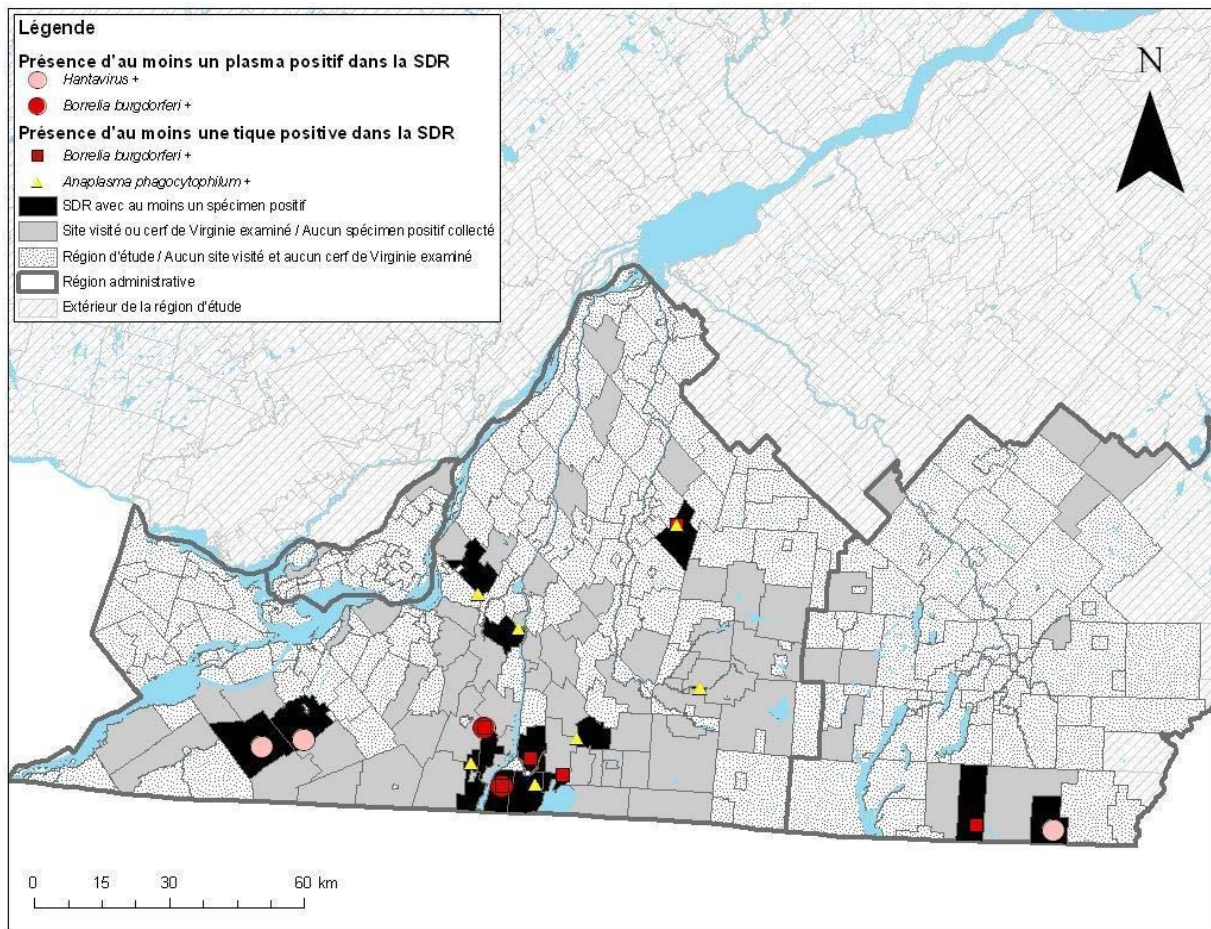
Au total, 648 tiques dont 353 *I. scapularis*, ont été analysées par PCR pour la présence d'ADN de *B. burgdorferi* et d'*A. phagocytophilum* (agent de l'anaplasmose granulocytaire humaine). Ces deux agents pathogènes n'ont été retrouvés que chez les *I. scapularis*. Parmi ces 353 tiques, 14 (4,0 %) ont été identifiées positives à *B. burgdorferi*. Onze d'entre elles (5,4 % des adultes), sept femelles et quatre mâles, avaient été collectées grâce à la technique de la flanelle durant la deuxième étape de l'étude, et les trois nymphes (6 % des nymphes) provenaient de rongeurs capturés. Deux provenaient d'un même tamia rayé (animal relâché et aucun échantillon de plasma prélevé) capturé à Noyan. La troisième nymphe provenait d'un *P. maniculatus* capturé à Barnston Ouest dont le plasma s'est avéré négatif. Il est à noter qu'une seule tique avait été obtenue sur ce site. Aucune tique collectée à partir des chevreuils n'a donné de résultat PCR positif à *B. burgdorferi*.

Dix-huit (5,1 %) *I. scapularis* ont été trouvées positives à *A. phagocytophilum*. Toutes sont des adultes (18 % des femelles, 3 % des mâles). Une seule a été collectée par la méthode de la flanelle alors que les autres provenaient toutes des chevreuils. Plusieurs tiques positives proviennent des mêmes chevreuils.

Aucune trace de la présence de *B. burgdorferi* n'a été détectée par les épreuves de PCR effectuées sur les tissus des animaux envoyés au LNM.

Considérant le faible nombre de spécimens positifs, malgré le nombre élevé de spécimens analysés, la figure 11 semble présenter un certain patron spatial pour chacun des agents pathogènes. En ne tenant compte que des tiques *I. scapularis* nymphes et adultes provenant des petits mammifères et de l'environnement, les proportions les plus élevées de tiques porteuses de *B. burgdorferi* par site proviennent de Saint-Valentin (4/16 = 25 %) et Venise-en-Québec (4/7 = 24 %). Ces deux sites sont situés dans le secteur près de la frontière canado-américaine autour de la rivière Richelieu.

**Figure 11 Localisation des spécimens de plasmas et de tiques positifs à l'hantavirus, *Borrelia burgdorferi* et *Anaplasma phagocytophilum***



## DISCUSSION

Avec la visite de 46 sites boisés et de 2 stations d'enregistrement de la faune, cette étude sur la maladie de Lyme est la plus importante jamais réalisée au Québec. À partir de données recueillies sur le terrain en Montérégie, en Estrie et à Montréal, elle a permis d'identifier les trois stades du vecteur de la maladie de Lyme, la tique *I. scapularis*. Près de 50 % des 717 tiques prélevées sur les animaux ou dans l'environnement appartenaient à cette espèce, soit 99 larves, 49 nymphes et 205 adultes. La majorité de ces *I. scapularis* ont été retrouvés dans deux secteurs géographiques de la Montérégie, soit autour de la rivière Richelieu, près de la frontière canado-américaine et le long du Fleuve St-Laurent sur la rive sud de Montréal entre Châteauguay et Longueuil. Dans l'ensemble des sites étudiés, très peu d'*I. scapularis* (3 nymphes et 11 adultes) et de souris (3) étaient positives pour *B. burgdorferi*, l'agent causal de la maladie de Lyme.

Cette section discutera successivement des méthodes de collecte employées, de la distribution observée des tiques, de la prévalence des agents pathogènes chez les hôtes et les vecteurs, et de l'impact des résultats obtenus sur la santé publique. Les objectifs de l'étude et les biais potentiels seront également revus.

La capture de petits mammifères et l'examen de la végétation à l'aide d'un carré de flanelle constituent les méthodes privilégiées pour mettre en évidence les populations de tiques (Lindsay *et al.*, 2006). Entre juin et octobre 2007, 46 sites sur 72 (64 %) ont été visités. Pour atteindre l'objectif initial de 72 sites, une troisième équipe de terrain aurait été nécessaire. Sur tous les sites, sauf un, des souris du genre *Peromyscus* ont été capturées. L'objectif de 15 souris par site a été atteint pour 57 % des sites. L'abondance des souris piégées augmentait au fur et à mesure que la saison avançait. En conformité avec notre protocole de recherche, deux autres méthodes de collecte de tiques ont été explorées. L'examen des chevreuils dans les stations d'enregistrement de la faune semble être une méthode facile et peu coûteuse pour collecter le stade adulte d'*I. scapularis*. En effet, en seulement quatre jours de travail, 115 tiques adultes ont été obtenues. De plus, les chasseurs et stations d'enregistrement de la faune ont fourni les coordonnées géographiques du lieu approximatif d'où provenaient la plupart des chevreuils examinés. D'un autre côté, l'examen des rats laveurs et des moufettes ne semble pas très efficace pour surveiller l'établissement des tiques vectrices de la maladie de Lyme, puisqu'aucune tique *I. scapularis* n'a été trouvée de cette façon.

Le nombre important de souris capturées lors des visites de sites permet de faire certaines remarques. D'abord, il semble y avoir un patron spatial propre à chacune des espèces de *Peromyscus*. En effet, les *P. leucopus* capturés dans notre étude se concentrent en Montérégie, alors que les *P. maniculatus* sont majoritaires en Estrie. La différence entre les habitats des deux régions pourrait expliquer cette observation. Des analyses plus détaillées à ce sujet, incluant l'analyse des données de végétation, sont présentement en cours. Deuxièmement, certaines souris ont déjà été exposées à *B. burgdorferi* comme en font foi les trois plasmas positifs identifiés. Bien que non ciblées par la présente étude, deux autres espèces de rongeurs étaient parasitées en proportion importante : les tamias rayés (cinq animaux parasités sur 65; 8 %) et les écureuils roux (quatre animaux parasités sur 16; 25 %). Les protocoles de capture et d'anesthésie n'étant pas adaptés à ces espèces,

l'examen des tamias rayés et des écureuils roux s'est fait de façon moins minutieuse et plus rapide que celui des souris, et aucun prélèvement sanguin n'a été recueilli. Ces deux espèces sont des hôtes reconnus de *I. scapularis* (Anderson, 1988). En 2005, Fournier (2006) avait aussi trouvé une nymphe sur un tamia.

Les 353 tiques *I. scapularis*, sauf une, ont été trouvées en Montérégie. La proportion de stades immatures obtenue dans cette étude (41,9 %) est beaucoup plus élevée que dans les données de surveillance passive (Trudel, communication personnelle, 2007). La distribution temporelle des stades semble suivre celle décrite dans la littérature avec une prépondérance de nymphes en juin et juillet, de larves, entre août et octobre, et d'adultes en octobre et novembre (Wilson et Spielman, 1985).

Des tiques ont été retrouvées dans 25 (54%) des 46 sites visités, et des stades immatures, dans 20 (43 %) de ceux-ci. Les deux stades immatures ont été retrouvés dans sept de ces 20 sites et les trois stades de la tique, dans six de ces sites. La proportion de sites où des tiques ont été retrouvées était supérieure dans les zones à risque élevé comparativement aux zones à risque modéré (48 % vs 28 %), mais cette différence n'est pas statistiquement significative. Dans une analyse multivariée contrôlant pour le mois de la visite et le nombre de souris capturées, il y a une association significative entre le niveau de risque des SDR et un indice d'abondance des tiques (analyse supplémentaire réalisée par Ogden *et al.*, 2008b). Les tiques sont concentrées dans deux secteurs géographiques, soit près de la frontière canado-américaine autour de la rivière Richelieu et sur la rive sud du Fleuve St-Laurent entre Châteauguay et Longueuil. Les cerfs de Virginie les plus parasités avaient d'ailleurs été chassés dans ces secteurs. Ne considérant que les tiques nymphes et adultes provenant des petits mammifères et de l'environnement, certains sites du premier secteur présentent des proportions relativement importantes de tiques porteuses de *B. burgdorferi* (plus de 20 %). À ces deux secteurs, il faut ajouter les SDR de Saint-Dominique et de Saint-Simon, deux SDR voisines, où des stades immatures ont également été trouvés en plus petite quantité.

Plusieurs méthodes de recherche de tiques ont été employées pendant cette étude. La flanelle est indiquée pour la recherche des trois stades de la tique. Elle ne semble pas favoriser un stade plus qu'un autre si on considère la première étape de l'étude (10 larves, 15 nymphes, 7 mâles et 3 femelles). Par contre, la capture des petits mammifères apparaît comme la méthode la plus efficace pour collecter les stades immatures de la tique. En effet, 80 % des tiques immatures ont été collectées à l'aide de cette méthode. L'examen des chevreuils, quant à lui, est très utile pour trouver des *I. scapularis* adultes. Bien qu'aucun stade immature n'ait été trouvé par cette méthode, elle fournit une information fort intéressante. Contrairement à la surveillance passive qui ramène très peu de mâles, l'examen des chevreuils en démontre beaucoup. De plus, certaines tiques mâles ont été trouvées en accouplement avec des femelles, démontrant pour la première fois la reproduction de ces tiques au Québec (Trudel, communication personnelle, 2008).

La tique *H. leporis-palustris* est la deuxième en termes de fréquence. Toutes les tiques de cette espèce, en majorité des larves, ont été recueillies par la flanelle. Cette tique agit comme vecteur d'autres zoonoses telles que la tularémie et la fièvre pourprée des Montagnes rocheuses. Au moins un cas de tularémie associé à une piqûre de tique a

d'ailleurs été rapporté chez un québécois ayant voyagé au Massachusetts (Perron *et al.*, 2006).

En plus de l'établissement d'une population d'*I. scapularis*, la présence de la bactérie *B. burgdorferi* est nécessaire pour poser un risque de transmission de la maladie de Lyme dans une région. Contrairement à l'étude menée en 2005 (Fournier, 2006), des tiques porteuses de *B. burgdorferi* ont été trouvées. Dans l'ensemble, 14 tiques *I. scapularis* étaient porteuses de *B. burgdorferi*, soit 11 adultes et 3 nymphes. Tel qu'attendu, aucune larve et aucune autre espèce de tique ne se sont avérées positives pour cette bactérie. De plus, aucune tique collectée sur les chevreuils n'en était porteuse, le sang des chevreuils étant reconnu pour contenir des enzymes qui inhibent la réplication de l'agent pathogène (Ogden, communication personnelle, 2008). Selon le programme de surveillance passive, la proportion provinciale moyenne de tiques porteuses de *B. burgdorferi* au Québec de 1990 à 2006 est de 11 % (Louise Trudel, communication personnelle, 2008). Dans la présente étude, les sites où au moins 11 % des tiques sont porteuses se retrouvent dans les SDR de Saint-Valentin, Venise-en-Québec et Saint-Dominique. La présente étude montre aussi que la séroprévalence chez les souris est très faible pour l'ensemble de la zone étudiée (0,5 %). Deux souris positives provenaient du site de Noyan, où le nombre d'*I. scapularis* était le plus élevé. Une troisième souris avait été capturée dans une SDR voisine (Saint-Valentin) présentant également un nombre élevé de tiques. Ces deux sites sont situés tout près de la frontière canado-américaine. Cette faible séroprévalence suggère que *B. burgdorferi* n'est pas encore implanté chez l'hôte principal des larves et des nymphes au Québec. Cela diffère des études faites dans les sites endémiques d'Ontario où 25 à 40 % des souris étaient porteuses de la bactérie (Lindsay *et al.*, 1999b; Morshed *et al.*, 2003).

Notre étude a aussi permis d'investiguer la présence d'*A. phagocytophilum* au Québec. Aucune tique de stade immature n'était porteuse de cet agent infectieux. Tous les adultes positifs, à l'exception d'un seul, ont été récoltés sur des chevreuils. Ce dernier hôte contribue au maintien du cycle naturel de l'agent. Généralement, la tique acquiert ce micro-organisme à la suite d'un repas de sang sur un animal réservoir qui est principalement *P. leucopus* (Ravyn *et al.*, 2001). Notre étude a aussi permis d'investiguer l'exposition à l'hantavirus dans la faune du Québec. La séroprévalence est faible (1 %). Les souches en présence n'ayant pas encore été déterminées, l'importance de ces trouvailles pour la santé publique reste imprécise. Dans l'étude de Fournier (2006), 2 % des souris s'étaient avérées positives pour l'hantavirus.

Les résultats de la présente étude sont importants pour la santé publique à plus d'un titre. Parmi les tiques *I. scapularis* récoltées, les larves et les nymphes représentent respectivement 28,0 % et 14 % des spécimens. C'est le stade nymphal qui pose le plus grand risque de transmission de la maladie de Lyme à l'humain (CDC, 2004a). En effet, les tiques de ce stade peuvent piquer l'humain, être porteuses de *B. burgdorferi* et, de par leur petite taille, elles passent plus souvent inaperçues que les adultes. Contrairement aux données de surveillance passive, les résultats révèlent la présence des trois stades de la tique *I. scapularis* et ce, dans au moins six sites en Montérégie. La grande nouveauté est d'ailleurs l'identification pour la première fois du stade larvaire. Cela constitue un premier indicateur de l'établissement du vecteur au Québec. Tel que recommandé par les organisations de santé publique, cette observation doit être confirmée pour une deuxième

année (Santé Canada, 1991). Parmi les sites visités en 2007, cinq faisaient partie de l'étude épidémiologique sur les zoonoses transmises par les tiques en 2005 (Fournier, 2006). Des *I. scapularis* y avaient été découverts et, pour la première fois au Québec, des nymphes avaient été identifiées. Lorsque ces sites ont été revisités dans le cadre de la présente étude, des stades immatures (uniquement des larves) ont été retrouvés dans seulement trois de ces sites. Cela démontre l'utilité de suivre la situation sur le terrain. En considérant l'ensemble des résultats décrits (nombre total de tiques, nombre de stades immatures, présence de tiques ou plasmas positifs pour l'agent pathogène, proximité de plusieurs sites présentant des tiques), deux secteurs semblent indiquer un potentiel d'établissement de population de tiques : 1) autour de la rivière Richelieu, près de la frontière canado-américaine; 2) près du Fleuve St-Laurent entre Châteauguay et Longueuil. Avec un plus faible nombre de tiques, le secteur de Saint-Simon/Saint-Dominique doit également faire l'objet d'un suivi car il y a présence non négligeable de stades immatures.

La maladie de Lyme est une zoonose en émergence au Québec. Étant donné le faible nombre de tiques récoltées sur les petits mammifères, comparativement aux sites canadiens endémiques déjà connus, cela suggère qu'*I. scapularis* est potentiellement en cours d'établissement dans les secteurs de la Montérégie décrits précédemment (Ogden *et al.*, 2008a). Des études futures pourront le confirmer. Pour le moment, le risque d'être infecté demeure faible, mais il devient important d'informer les autorités de santé publique et les professionnels de la santé de la situation. Lorsque l'établissement d'une population de tiques aura été confirmé dans une région, le cycle de la bactérie pourra aussi s'établir, étant donné la forte prévalence dans les sites endémiques situés au sud de la frontière.

Cette étude arrive à un moment où le public et la communauté scientifique se questionnent beaucoup sur les impacts des changements climatiques. Jusqu'à ce jour, on s'entendait pour dire qu'aucune population de tiques *I. scapularis* n'était établie au Québec dû à notre climat moins favorable. Notre étude démontre que la situation est en train de changer. Tel que proposé par des exercices de modélisation, l'augmentation des températures pourrait favoriser le processus d'établissement de ces tiques à nos latitudes (Ogden *et al.*, 2008b).

Notre étude a atteint complètement ou partiellement les objectifs fixés. Tout d'abord, elle a permis de documenter la présence des trois stades de la tique *I. scapularis* et d'identifier certains secteurs où elle semble en voie d'établissement. La prévalence de *B. burgdorferi* et *A. phagocytophilum* dans les tiques et les souris du genre *Peromyscus* a été mesurée. Un effort de validation des cartes de risque a été effectué en comparant le nombre et le stade des tiques trouvées entre les secteurs à risque élevé et modéré d'établissement de la tique au Canada (Ogden *et al.*, 2008b). Du matériel utile pour investiguer la diversité génétique des souches de *B. burgdorferi* a été obtenu. Les objectifs secondaires portant sur l'exploration d'autres méthodes de collecte et la séroprévalence de l'hantavirus ont aussi été atteints.

Ce rapport s'appuie essentiellement sur des analyses descriptives. Plusieurs biais sont à considérer dans l'interprétation des résultats. Tout d'abord, la répartition aléatoire spatio-temporelle des sites visités n'a pas été optimale. L'effort d'échantillonnage a été plus élevé et plus précoce en Montérégie, particulièrement dans la zone de niveau de risque élevé. Ceci s'explique par le fait que les sites de la Montérégie ont été identifiés en premier, ce qui a permis d'obtenir les autorisations d'accès et de faire les visites plus tôt dans la saison. Les

sites de l'Estrie, qui sont tous de niveau de risque modéré, ont été identifiés plus tard. La première visite s'est faite en juin en Montérégie et au début du mois d'août en Estrie. Quelques sites de niveau de risque modéré ont tout de même été visités en juin et juillet en Montérégie. D'autre part, les chevreuils examinés provenaient surtout de la Montérégie, augmentant le nombre de tiques adultes provenant de cette région. Ceci s'explique par l'emplacement des deux stations d'enregistrement de la faune retenues pour l'étude. Enfin, pour avoir une meilleure chance de récolter les trois stades de la tique sur un même site, il aurait fallu le visiter à trois reprises entre les mois de juin et octobre (Wilson et Spielman, 1985). Malgré le fait que les sites aient été visités au maximum deux fois (capture et flanelle d'été; flanelle d'automne), les trois stades ont tout de même été notés dans six SDR.

Le fait d'avoir deux équipes de terrain peut produire un biais dans les chances de trouver des tiques si les techniques de travail diffèrent. Par contre, un effort a été fait afin d'uniformiser les procédures. Lors de la visite du premier site, les deux équipes ont suivi ensemble une formation pratique sur le terrain. Contrairement au protocole de recherche de tiques appliqué sur les sites (piégeage et flanelle), la sélection et l'examen des chevreuils n'ont pas été faits de manière rigoureuse, car il s'agissait d'une exploration de l'utilité de la méthode. Il faut donc en tenir compte dans l'interprétation des données recueillies. Les tests de laboratoire ont aussi leurs limites. Des sérologies faussement positives ou négatives sont possibles, d'autant plus que la séroprévalence globale est très faible. La concentration des sérologies positives pour *B. burgdorferi* dans certains sites donne toutefois du crédit aux résultats. Cependant, les épreuves de PCR n'ont détecté aucune trace de *B. burgdorferi* dans les tissus des souris sérologiquement positives. Deux raisons peuvent expliquer cette discordance des résultats. Tout d'abord, les trois sérologies positives pourraient être des faux positifs. Deuxièmement, ces trois résultats pourraient être des vrais positifs suggérant alors une exposition antérieure des souris à l'agent pathogène. Ceci dit, la présente étude n'a pas permis d'identifier de population animale réservoir au Québec.

Certaines suggestions peuvent être faites sur les orientations à privilégier pour la poursuite des travaux. Vu la présence non négligeable de tiques sur certains sites, il serait important d'y retourner pour documenter l'évolution et confirmer l'établissement ou non de population de tiques. Il serait aussi pertinent de retourner sur certains de ces sites à trois reprises, afin d'évaluer le niveau d'activité des trois stades et de comprendre le cycle d'établissement présentement en cours dans le sud du Québec. Comme l'étude de 2007 et certains auteurs (Anderson, 1988) suggèrent que les tamias rayés et les écureuils roux sont des hôtes possibles d'*I. scapularis*, il serait approprié d'obtenir des échantillons sanguins et tissulaires de ces animaux afin de documenter la séroprévalence et présence de *B. burgdorferi* chez ces rongeurs.

L'examen des cerfs de Virginie fournissant des données intéressantes en 2007, gagnerait à s'appuyer sur un protocole rigoureux pour l'échantillonnage des animaux et la recherche des tiques. Il serait utile d'évaluer dans quelle mesure l'examen de ces animaux est une méthode efficace de détection de populations établies de tiques. Dans ce contexte, il serait important d'aller dans des stations d'enregistrement de la faune situées en Estrie. Il faudrait aussi comparer cette méthode de surveillance avec la visite des sites (piégeage et flanelle) et avec les données provenant du système de surveillance passive existant.

Les interprétations figurant dans ce rapport sont basées sur des analyses descriptives. À la suite de la deuxième année de collecte de données, il serait approprié d'effectuer des analyses statistiques plus poussées pour valider ou invalider les interprétations faites jusqu'à présent.

En conclusion, notre étude apporte une meilleure connaissance de l'établissement de populations de la tique *I. scapularis* dans le sud de la province. La confirmation de ces données nécessite une deuxième année de collecte sur le terrain.

## RÉFÉRENCES

- Adler, G.H., S.R. Telford III, M.L. Wilson et A. Spielman. 1992. Vegetation structure influences the burden of immature *Ixodes dammini* on its main host, *Peromyscus leucopus*. *Parasitology*. 105: 105-110.
- Allen, B.F., F. Keesing et R.S. Ostfeld. 2003. *Effect of forest fragmentation on Lyme disease risk*. *Conservation Biology*. 17: 267-272.
- Anderson, J.F. 1988. *Mammalian and Avian Reservoir for Borrelia burgdorferi*. *Annals of the New-York Academy of Sciences*. 539: 180-191.
- Anderson, J.F. 1991. *Epizootiology of Lyme Borreliosis*. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. Supplementum. 77: 23-34.
- Anderson, J.F. 2002. *The Natural History of Ticks*. *The Medical Clinics of North America*. 86 (2): 205-218.
- Bakken, J.S., J.S. Dumler, S.M. Chen, M.R. Eckman, L.L. Van Etta et D.H. Walker. 1994. *Human granulocytic ehrlichiosis in the upper Midwest United States. A new species emerging?* *Journal of the American Medical Association*. 272 : 212-218.
- Barbour, A.G et D. Fish. 1993. *The Biological and Social Phenomenon of Lyme Disease*. *Science*. 260: 1610-1616.
- Bertrand, M.R. et M.L. Wilson. 1996. Microclimate-dependent survival of unfed adult *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in nature: life cycle and study design implications. *Journal of Medical Entomology*. 33: 619-627.
- Burgdorfer, W., A.G. Barbour, S.F. Hayes, J.L. Benach, E. Crunwaldt et J.P. Davis. 1982. *Lyme disease – a tick-borne spirochetosis?* *Science*. 216: 1317-1319.
- Buteau, C., P. Barriga, L. Trudel and J.B. Girodias. 2003. *Un premier cas d'ehrlichiose granulocytaire humaine au Québec*. XXVIII<sup>e</sup> congrès annuel de l'Association des médecins microbiologistes infectiologues du Québec. Saint-Hyacinthe.
- Canadian Public Health Laboratory Network. 2007. *The laboratory diagnosis of Lyme borreliosis: Guidelines from the CPHLN*. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*. 18 (2) 145-148.
- CDC. 1993. *Outbreak of acute illness – Southwestern United States*. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 42: 421-424.
- CDC. 2004a. <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/Lyme/index.htm>.
- CDC. 2004b. *Lyme Disease – United States, 2001-2002*. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 53 (17): 365-368.

Chen, S.M., J.S. Dumler et J.S. Bakken. 1994. *Identification of a granulocytotropic Ehrlichia species as the etiologic agent of human disease*. Journal of Clinical Microbiology. 32: 589-595.

Couillard, M., M. Lepage et H. Artsob. 1995. Enquête sur la séroprévalence de l'hantavirus chez la souris sylvestre (*Peromyscus maniculatus*) au Québec. Institut national de santé publique du Québec.

DMTI Spatial Inc. *CanMap® Streetfiles*. <http://dmtispatial.com/>, consulté en 2007.

DMTI Spatial Inc. *CanMap® Water*. <http://dmtispatial.com/>, consulté en 2007.

Dumler, J.S. et J.S. Bakken. 1995. *Ehrlichial diseases of humans: emerging tick-borne infections*. Clinical Infectious Diseases. 20 1102-1110.

Fournier S. 2006. Etude épidémiologique sur les zoonoses transmises par les tiques et sur la séroprévalence de l'hantavirus chez les souris du genre *Peromyscus* au Québec. *Mémoire de maîtrise en environnement*. Université de Sherbrooke. 111 p.

Ginsberg, H.S. et C.P. Edwing. 1989. Habitat distribution of *Ixodes dammini* (Acari : Ixodidae) and Lyme disease spirochete on Fire Island, New-York. Journal of Medical Entomology. 26: 183-189.

Ginsberg, H.S., E. Zhioua, S. Mitra, J. Fisher, P.A. Buckley, F. Verret, H.B. Underwood et F.G. Buckley. 2004. *Woodland Type and Spatial Distribution of Nymphal Ixodes scapularis (Acari: Ixodidae)*. Environmental Entomology. 33 (5): 1266-1273.

Guerra, M., E. Walker, C. Jones, S. Paskewitz, M.R. Cortinas, A. Stancil, L. Beck, M. Bobo et U. Kitron. 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.

Jones, C.J. et U.D. Kitron. 2000. Populations of *Ixodes scapularis* (Acari : Ixodidae) Are Modulated by Drought at a Lyme Disease Focus in Illinois. Journal of Medical Entomology. 37 (3): 408-415.

Leboeuf, M. *Arbres et Plantes Forestières du Québec et des Maritimes*. Waterloo. Éditions Michel Quintin. 2006. 391 p.

Lee, H.W., P.W. Lee et K.M. Johnson. 1978. *Isolation of the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever*. Journal of Infectious Diseases. 137: 298-308.

Lee, P. W., H. L. Amyx, R. Yanagihara, D. C. Gajdusek, D. Goldgaber et C. J. Gibbs. 1985. *Partial characterization of Prospect Hill virus isolated from meadow voles in the United States*. Journal of Infectious Diseases. 152: 826-829.

Lindsay, R., I.K. Barker, G.A. Surgeoner, S.A. McEwen et G.D. Campbell. 1997. Duration of *Borrelia burgdorferi* infectivity in white-footed mice for the tick vector *Ixodes scapularis* under laboratory and field conditions in Ontario. Journal of Wildlife Diseases. 33: 766-775.

- Lindsay, R., S.W. Mathison, I.K. Barker, S.A. McEwen, T.J. Gillespie et G.A. Surgeoner. 1999a. *Microclimate and Habitat in Relation to Ixodes scapularis (Acari: Ixodidae) Populations on Long Point, Ontario, Canada*. Journal of Medical Entomology. 36 (3): 255-262.
- Lindsay, R., S.W. Mathison, I.K. Barker, S.A. McEwen et G.A. Surgeoner. 1999b. *Abundance of Ixodes scapularis (Acari: Ixodidae) Larvae and Nymphs in Relation to Host Density and Habitat on Long Point, Ontario, Canada*. Journal of Medical Entomology. 36 (3): 243-254.
- Lindsay, R., M.A. Drebot, E. Weiss et H. Artsob. 2001. *Hantavirus pulmonary syndrome in Manitoba*. Canadian Journal of Infectious Diseases. 12 (3): 169-173.
- Lindsay R, A. Dibernardo et H. Artsob. 2006. Field studies on the establishment of the Lyme disease vector tick, *Ixodes scapularis*, and associated zoonotic agents, in St. Lawrence Islands National Park, Ontario. *Interim report. National Microbiology Laboratory. Winnipeg*.
- LoGiudice K, R.S. Ostfeld, K.A. Schmidt et F. Keesing. 2003. *The ecology of infectious disease: Effects of host diversity and community composition on Lyme disease risk*. Proceedings of the National Academy of Sciences. 100 (2) : 567-571.
- Lubelcyk, C.B., S.P. Elias, P.W. Rand, M.S. Holman, E.H. Lacombe et R.P. Smith Jr. 2004. *Habitat Association of Ixodes scapularis (Acari : Ixodidae) in Maine*. Environmental Entomology. 33 (4): 900-906.
- McQuiston, J.H., C.D. Paddock, R.C. Holman et J.E. Childs. 1999. *The Human Ehrlichioses in the United States*. Emerging Infectious Diseases. 5 (5): 635-642.
- Ministère des Ressources naturelles et Faune. Division des inventaires forestiers. [fichiers numériques et documents papiers]. *Système d'information écoforestière (SIEF)*. 2003. 1/20 000
- Ministère des Ressources naturelles et Faune. [fichiers numériques]. *Orthophotographie noir et blanc*. 1999-2000. 1/40 000.
- Ministère de la Santé et des Services sociaux. 2006. *Surveillance des maladies à déclaration obligatoire au Québec. Définitions nosologiques. Maladies d'origine infectieuse*. 6<sup>e</sup> édition.
- Morshed, M.G., Scott, J.D., Fernando, K., Mann, R.B. et L.A. Durben. 2003. *Lyme Disease Spirochete, Borrelia burgdorferi Endemic at Epicenter in Rondeau Provincial Park, Ontario*. Journal of Medical Entomology. 40 (1): 91-94.
- Ogden, N.H., L.R. Lindsay, G. Beauchamp, D. Charron, A. Maarouf, C.J. O'Callaghan, D. Waltner-Toews et I.K. Barker. 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.

Ogden, N.H., A. Maarouf, I.K. Barker, M. Bigras-Poulin, L.R. Lindsay, M.G. Morshed, C.J. O'Callaghan, F. Ramay, Waltner-Toews et D.F. Charron. 2005a. *Climate change and the potential for range expansion of the Lyme disease vector Ixodes scapularis in Canada*. International Journal of Parasitology. 36: 1-8.

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

Ogden, N.H., L. Trudel, H. Artsob, I.K. Barker, G. Beauchamp, D. F. Charron, M.A. Drebot, T.D. Galloway, R. O'Handley, R.A. Thompson et L.R. Lindsay. 2006. *Ixodes scapularis Ticks Collected by Passive Surveillance in Canada: Analysis of Geographic Distribution and Infection with Lyme Borreliosis Agent Borrelia burgdorferi*. Journal of Medical Entomology. 43 (3): 600-609.

Ogden, N.H., M. Bigras-Poulin, C.J. O'Callaghan, I.K. Barker, K. Kurtenbach, L.R. Lindsay et D.F. Charron. 2007. *Vector seasonality, host infection dynamics and fitness of pathogens transmitted by the tick Ixodes scapularis*. Parasitology. 134: 209-227.

Ogden, N.H., L.R. Lindsay, M. Morshed, P.N. Sockett, H. Artsob. 2008a. *La borréliose de Lyme au Canada : un problème grandissant*. Relevé des maladies transmissibles au Canada (RMTc). 34 (1) : 1-20, <http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/ccdr-rmtc/08vol34/dr-rm3401a-fra.php>, consulté en 2008.

Ogden NH, St-Onge L, Barker IK, Brazeau S, Bigras-Poulin M, Charron DF, Francis CM, Heagy A, Lindsay LR, Maarouf A, Michel P, Milord F, O'Callaghan CJ, Trudel L, Thompson RA. 2008b. *Risk maps for range expansion of the Lyme disease vector, Ixodes scapularis, in Canada, now and with climate change*. Int J Health Geogr. 7: 24.

Olano, J.P. et D.H. Walker. 2002. *Human ehrlichioses*. Medical Clinics of North America. 86 (2): 375-392.

Ostfeld, R.S., O.M. Cepeda, K.R Hazler et M.C. Miller. 1995. *Ecology of Lyme Disease: Habitat Associations of Ticks (Ixodes Scapularis) In a Rural Landscape*. Ecological Applications. 5 (2): 353-361.

Pancholi, P., C.P. Kolbert, P.D. Mitchell, K.D. Reed, J.S. Dumler, J.S. Bakken, S.R. Telford III et D.H. Persing. 1995. *Ixodes dammini as a potential vector of human granulocytic ehrlichiosis*. Journal of Infectious Diseases. 172: 1007-1012.

Perron, L., de la Boissière, L., Levac, E. et F. Milord. 2006. *Les maladies infectieuses en Montérégie, incluant les maladies à déclaration obligatoire (MADO)*. Rapport annuel 2005. Agence de la santé et des services sociaux de la Montérégie. 76 p.

Pfister, H.W., B. Wilske et K. Weber. 1994. *Lyme borreliosis: basic science and clinical aspects*. Lancet. 343: 1014.

Rand, P.W., C. Lubelczyk, G.R. Lavigne, S. Elias, M.S. Holman, E.H. Lacombe et R.P. Smith Jr. 2003. *Deer Density and the Abundance of Ixodes scapularis (Acari: Ixodidae)*. Journal of Medical Entomology. 40 (2): 179-184.

Ravyn, M.D., C.B. Kodner et S.E. Carter. 2001. Isolation of the etiologic agent of human granulocytic ehrlichiosis from the white-footed mouse (*Peromyscus leucopus*). Journal of Clinical Microbiology. 39: 335-338.

Ressources naturelles du Canada. *L'observation de la Terre pour le développement durable des forêts (OTDD)*. 1990-2006. 1/250 000.

[http://www.pfc.cfs.nrcan.gc.ca/monitoring/Saforah/index\\_f.html](http://www.pfc.cfs.nrcan.gc.ca/monitoring/Saforah/index_f.html), consulté en 2007.

Rouleau, R. et al. *Petite flore forestière du Québec*. 2<sup>e</sup> éd. rev. et augm. Québec. Les Publications du Québec. 1990. 249 p.

Safronetz, D., R. Lindsay, A. Dibernardo, B. Hjelle, R. Xiao, H. Artsob et M. A. Drebot. 2005. *A Preliminary Study of the Patterns of Sin Nombre Viral Infection and Shedding in Naturally Infected Deer Mice (Peromyscus maniculatus)*. Vector Borne Zoonotic Diseases. 5 (2): 127-132.

Santé Canada. 1991. *Consensus Conference on Lyme Disease*. Canadian Medical Association Journal. 144: 1627-1632.

Schulze, T.L., R.A. Jordan et R.W. Hung. 1998. Comparison of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) populations and their habitats in established and emerging Lyme disease areas in New Jersey. Journal of Medical Entomology. 35: 64-70.

Schulze, T.L., R.A. Jordan et R.W. Hung. 1995. Suppression of subadult *Ixodes scapularis* (Acari : Ixodidae) following removal of leaf litter. Journal of Medical Entomology. 32: 730-733.

Schulze, T.L. et R.A. Jordan. 1996. Seasonal and long-term variations in abundance of adult *Ixodes scapularis* (Acari : Ixodidae) in different coastal plain habitats of New Jersey, USA. Journal of Medical Entomology. 33: 963-970.

Scott, J.D., K. Fernando, S.N. Banerjee, L.A. Durden, S.K. Byrne, M. Banerjee, R.B. Mann et M. G. Morshed. 2001. *Birds disperse Ixodid (Acari: Ixodidae) and Borrelia burgdorferi-infected ticks in Canada*. Journal of Medical Entomology. 38 (4): 493-500.

Serhir, B., M. Couillard, J. Bouchard et P. Gauthier. 2004. Syndrome cardio-pulmonaire dû au Hantavirus (Virus Sin Nombre) : premier cas humain acquis au Québec. AMMIQale 12 (4) : 8-12.

Smith, C.N. 1944. *Biology of Ixodes muris*. Annals of the Entomological Society of America. 37: 221-234.

Spach, D. H. et al. 1993. Tick-borne diseases in the United States. New England Journal of Medicine. 329 (13): 937.

- Spielman, A., C.M. Clifford et J. Piesman. 1979. Human babesiosis on Nantucket Island, U.S.A.: Description of the vector, *Ixodes (Ixodes) dammini*, n. sp. (Acarina: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*. 15 : 218-234.
- Spielman, A., M.L. Wilson et J.F. Levine. 1985. *Ecology of Ixodes dammini-borne human babesiosis and Lyme disease*. *Annual Review of Entomology*. 30: 439-460.
- Stafford, K.C. 1994. Survival of immature *Ixodes scapularis* (Acari : Ixodidae) at different relative humidities. *Journal of Medical Entomology*. 31: 310-314.
- Steere, A.C., J. Coburn et L. Glickstein. 2004. *The emergence of Lyme Disease*. *The Journal of Clinical Investigation*. 113 (8): 1093-1101.
- Tessier N., Noël S. et Lapointe F.-J. 2004. A new method to discriminate the deer mouse (*Peromyscus maniculatus*) and the white-footed mouse (*Peromyscus leucopus*) using species-specific primers in multiplex-PCR. *Canadian Journal of Zoology*. 82: 1832-1835.
- Trudel, L. 2007. *Données de surveillance sur les tiques vectrices de la maladie de Lyme 1990-2006*. Institut national de santé publique du Québec, Laboratoire de santé publique du Québec, communication personnelle.
- Wilson, M.L., G.H. Adler et A. Spielman. 1985. *Correlation between abundance of deer and that of the deer tick, Ixodes dammini (Acari: Ixodidae)*. *Annals of Entomological Society of America*. 78: 172-176.
- Wilson, M.L. et A. Spielman. 1985. *Seasonal activity of immature Ixodes dammini (Acari: Ixodidae)*. *Journal of Medical Entomology*. 26 (26): 408-414.

## **ANNEXE 1**

**LISTES DES SDR OÙ IL Y A EU RECHERCHE DE TIQUES SUR DES  
SOURIS ET/OU LA FLANELLE ET/OU LES CERFS DE VIRGINIE**



**LISTES DES SDR OÙ IL Y A EU RECHERCHE DE TIQUES SUR DES SOURIS ET/OU LA FLANELLE  
ET/OU LES CERFS DE VIRGINIE**

RÉGION ADMINISTRATIVE Municipalité	1 <sup>re</sup> visite des sites		2 <sup>e</sup> visite des sites	Station d'enregistrement de la faune
	Capture	Flanelle été	Flanelle automne	
<b>MONTÉRÉGIE</b>				
Ange-Gardien				X
Bedford	X	X	X	X
Brigham				X
Bromont				X
Carignan				X
Châteauguay	X	X	X	
Cowansville				X
Dunham				X
Farnham				X
Franklin	X	X		X
Frelighsburg				X
Godmanchester	X		X	
Granby				X
Havelock	X	X		
Hemmingford			X	X
Henryville	X	X	X	X
Iberville				X
Kahnawake	X	X	X	
La Prairie	X	X	X	X
L'Acadie	X	X		
Lac-Brome				X
Lacolle				X
Longueuil	X	X	X	
Mont-Saint-Grégoire				X
Notre-Dame-de-Stanbridge				X
Notre-Dame-du-Mont-Carmel				X
Noyan	X	X	X	X
Ormstown	X	X	X	
Rougemont				X
Roxton Pond				X
Saint-Alexandre				X
Saint-Alphonse				X
Saint-Anicet	X	X	X	
Saint-Armand	X	X	X	X
Saint-Athanase				X
Saint-Bernard-de-Lacolle	X	X	X	X
Saint-Bernard-de-Michaudville	X	X		
Saint-Blaise-sur-Richelieu	X	X		X
Saint-Bruno-de-Montarville	X	X	X	
Saint-Charles-sur-Richelieu				X
Saint-Chrysostome	X	X		
Saint-Cyprien-de-Napierville	X	X	X	X
Saint-Dominique	X	X	X	
Sainte-Angèle-de-Monnoir	X	X	X	X
Sainte-Cécile-de-Milton				X
Sainte-Victoire-de-Sorel	X	X		

**LISTES DES SDR OÙ IL Y A EU RECHERCHE DE TIQUES SUR DES SOURIS ET/OU LA FLANELLE  
ET/OU LES CERFS DE VIRGINIE (SUITE)**

RÉGION ADMINISTRATIVE Municipalité	1 <sup>re</sup> visite des sites		2 <sup>e</sup> visite des sites	Station d'enregistrement de la faune
	Capture	Flanelle été	Flanelle automne	
<b>MONTÉRÉGIE (SUITE)</b>				
Saint-Georges-de-Clarenceville				X
Saint-Ignace-de-Stanbridge				X
Saint-Jacques-le-Mineur				X
Saint-Joachim-de-Shefford				X
Saint-Louis-de-Gonzague	X	X		X
Saint-Luc				X
Saint-Mathias-sur-Richelieu				X
Saint-Michel	X	X		
Saint-Patrice-de-Sherrington				X
Saint-Paul-de-l'Île-aux-Noix				X
Saint-Philippe				X
Saint-Pierre-de-Véronne-à-Pike-River	X	X		X
Saint-Sébastien				X
Saint-Simon	X	X	X	
Saint-Stanislas-de-Koska	X	X		X
Saint-Valentin	X	X	X	
Shefford				X
Stanbridge Station	X	X		
Stanbridge-East	X	X		X
St-Hubert	X	X	X	X
Très-Saint-Sacrement	X	X		X
Venise-en-Québec	X	X	X	
<b>ESTRIE</b>				
Ascot Corner	X	X		
Barnston Ouest	X	X		
Bolton-Est				X
Coaticook				X
Dixville	X	X		
Saint-Adrien	X	X		
Saint-Camille	X	X		
Saint-Joseph-de-Ham-Sud				X
Stanstead-Est				X
Stukely	X			
Stukely-Sud				X
Ulverton	X	X		
Valcourt	X	X		
<b>MONTRÉAL</b>				
Montréal	X	X		
Pierrefonds	X	X		

**ANNEXE 2**  
**INFORMATIONS SUR LES SOURIS**





## INFORMATION SUR LES SITES

SDR (nom, SDR\_ID) : \_\_\_\_\_

N° du site : \_\_\_\_\_

### Période de la visite

Début (pose des cages) : \_\_\_\_\_ Fin (dernière capture) : \_\_\_\_\_  
(an/mo/jr) (an/mo/jr)

### Coordonnées géographiques

#### Transect 2

Début : X \_\_\_\_\_ Y \_\_\_\_\_

Fin : X \_\_\_\_\_ Y \_\_\_\_\_

Nombre de nuits requis : \_\_\_\_\_

### Nombre d'animaux totaux / de souris capturés

Matin 1 : \_\_\_\_ / \_\_\_\_ (Date : \_\_\_\_\_)

Matin 2 : \_\_\_\_ / \_\_\_\_ (Date : \_\_\_\_\_)

### Nombre de cages utilisées/nuit :

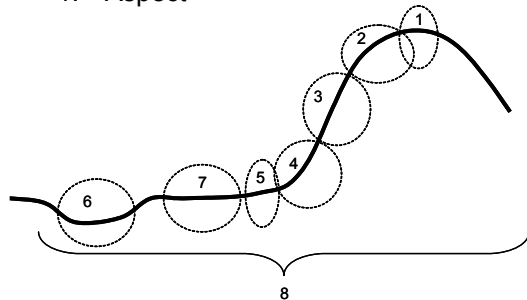
Nuit 1 : \_\_\_\_\_

Nuit 2 : \_\_\_\_\_

Équipe : SN (A)↑ CB (B)↑

### Caractéristiques/Classification écologique

#### 1. Aspect



#### 2. Humidité

1) Mouillé↑ 2) Humide↑ 3) Frais↑ 4) Sec↑

#### 3. Sol

Profondeur de la litière : \_\_\_\_\_ mm

Composantes : Sable : \_\_\_\_\_ % Terreau : \_\_\_\_\_ % Glaise : \_\_\_\_\_ %

Est-ce qu'il a plu? Si oui quand? Commentaires

Oui↑ Non↑

### Commentaires

---

---

---

**Végétation**

No de cage	Arbres (1, 2, 3, ...)	Plantes/Arbustes (a, b, c, ...)
1		
5		
10		
15		
20		
25		
30		
35		
40		
45		
50		

**Légende**

**Arbres**

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Plantes/Arbustes**

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---



