

**FIRST ISOLATION OF LYME DISEASE SPIROCHETE,
BORRELIA BURGdorFERI, FROM BLACKLEGGED
TICK, IXODES SCAPULARIS, REMOVED FROM
A BIRD IN NOVA SCOTIA, CANADA**

The Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*, has been isolated from a blacklegged tick, *Ixodes scapularis*, removed from a songbird in Canada. On 28 May 1999, this engorged blacklegged tick nymph was removed from a common yellowthroat, *Geothlypis trichas*, collected during bird banding on Bon Portage Island, Nova Scotia.

The Atlantic Bird Observatory participated in collecting attached ticks from passerine birds banded on Seal Island and Bon Portage Island off the southwest tip of Nova Scotia. During spring migration, 21 ticks were collected from 12 individual birds (4 species) from 14 to 29 May 1999. These immature (larva, nymph) ticks on birds included the rabbit tick, *Haemaphysalis leporispalustris*, and *I. scapularis* (Table 1).

As part of a monitoring program of ticks on birds in southern Canada, these engorged ticks were forwarded for identification, and then sent by courier to the British Columbia Centre for Disease Control Society (BCCDCS) for spirochetal analysis. At the BCCDCS, the tick identifications were confirmed and the ticks were surface sterilized using 10% hydrogen peroxide followed by 70% isopropyl alcohol, and transferred to sterile tissue to remove excess water. Dead ticks underwent DNA analysis directly using polymerase chain reaction (PCR) testing. For live ticks, the midgut contents were cultured in Barbour-Stoenner-Kelly (BSK) II medium at 34°C, and cultures were checked weekly by dark-field microscopy. Within 10 days, characteristic motile spirochetes were observed in one culture.

The isolate was immunostained with monoclonal antibodies of *B. burgdorferi*, namely, OspA (31 kilodalton [kDa]), OspB (34 kDa), P39 (39 kDa), and flagellin (41 kDa), and found to be reactive. Using PCR, DNA amplification of the OspA gene was conducted on the isolate and confirmed positive for *B. burgdorferi*.

**PREMIER ISOLEMENT DU SPIROCHÈTE DE LA MALADIE DE LYME,
BORRELIA BURGdorFERI, CHEZ UNE TIQUE
À PATTES NOIRES, IXODES SCAPULARIS, RETROUVÉE
SUR UN OISEAU EN NOUVELLE-ÉCOSSE, CANADA**

Le spirochète qui est à l'origine de la maladie de Lyme, *Borrelia burgdorferi*, a été isolé chez une tique à pattes noires, *Ixodes scapularis*, retrouvée sur un oiseau chanteur au Canada. Le 28 mai 1999, cette nymphe de tique à pattes noires engorgée a été retirée d'une paruline masquée, *Geothlypis trichas*, recueillie durant des opérations de bagueage sur l'île Bon Portage, en Nouvelle-Écosse.

Le Atlantic Bird Observatory a participé à la collecte des tiques portées par les passereaux bagués sur Seal Island et l'île Bon Portage au large de la pointe sud-ouest de la Nouvelle-Écosse. Pendant la migration du printemps, 21 tiques ont été recueillies sur 12 oiseaux (4 espèces) entre le 14 et le 29 mai 1999. Ces tiques immatures (larves, nymphes) sur les oiseaux englobaient la tique du lapin, *Haemaphysalis leporispalustris*, et *I. scapularis* (tableau 1).

Dans le cadre du programme de surveillance des tiques retrouvées sur les oiseaux dans le sud-est du Canada, ces tiques engorgées ont été transmises pour identification, après quoi elles ont été envoyées par messenger au British Columbia Centre for Disease Control Society (BCCDCS) pour la recherche du spirochète. Au BCCDCS, les identifications des tiques ont été confirmées et l'on a procédé à la stérilisation superficielle des tiques avec du peroxyde d'hydrogène à 10 % et ensuite de l'alcool isopropylique à 70 %, puis on les a placées sur des papiers stériles pour retirer l'excédent d'eau. On a ensuite procédé à l'analyse de l'ADN des tiques mortes par amplification de la polymérase (PCR). Dans le cas des tiques vivantes, on a cultivé le contenu du mésentéron (intestin moyen) dans un milieu Barbour-Stoenner-Kelly (BSK) II à 34 °C, et les cultures ont été contrôlées chaque semaine au microscope à fond noir. Dix jours plus tard, il a été possible d'observer les spirochetes mobiles caractéristiques dans une culture.

On a ensuite procédé à l'immunocoloration de l'isolat avec des anticorps monoclonaux de *B. burgdorferi*, notamment, OspA (31 kilodalton [kDa]), OspB (34 kDa), P39 (39 kDa), et la flagelline (41 kDa), et celui-ci s'est révélé positif. On a amplifié l'ADN du gène OspA par PCR et on a confirmé qu'il était positif pour *B. burgdorferi*.

Table 1/Tableau 1

Ticks retrieved from birds on Bon Portage Island and Seal Island, Nova Scotia, Canada, 14 to 29 May 1999

Tiques retrouvées sur des oiseaux à l'île Bon Portage et à Seal Island, Nouvelle-Écosse, Canada, du 14 au 29 mai 1999

Bird species Espèces d'oiseaux	Migration code* Code de migration*	Number of birds with ticks Nombre d'oiseaux porteurs de tiques	<i>Ixodes scapularis</i>		<i>Haemaphysalis leporispalustris</i>	
			Larva/Larve	Nymph**/Nymph**	Larva/Larve	Nymph/Nymph
Common yellowthroat, <i>Geothlypis trichas</i> Paruline masquée, <i>Geothlypis trichas</i>	1	7	1	10	0	0
Northern waterthrush, <i>Seiurus noveboracensis</i> Paruline des ruisseaux, <i>Seiurus noveboracensis</i>	2	1	3	0	0	0
Swainson's thrush, <i>Catharus ustulatus</i> Grive à dos olive, <i>Catharus ustulatus</i>	2	2	2	2	0	0
Song sparrow, <i>Melospiza melodia</i> Bruant chanteur, <i>Melospiza melodia</i>	3	2	0	0	3	0
Total		12	6	12	3	0

* Migration code: 1 - The species migrates to the southern United States where it also occurs all year; 2 - The species is a neotropical migrant which overwinters in tropical areas; 3 - The species occurs all year in Nova Scotia. / Code de migration : 1 - L'espèce migre vers le sud des États-Unis où elle vit également toute l'année; 2 - Il s'agit d'une espèce d'oiseaux migrateurs néotropicaux qui hivernent dans les régions tropicales; 3 - L'espèce peut être observée toute l'année en Nouvelle-Écosse.

** An isolate of *Borrelia burgdorferi* was obtained from a nymph collected on Bon portage Island on 28 May 1999. / Un isolat de *Borrelia burgdorferi* a été obtenu d'une nymphe recueillie sur l'île Bon Portage le 28 mai 1999.

This is the first isolation of *B. burgdorferi* from a blacklegged tick removed from a migratory bird in Canada. In fact, it is the first isolation of *B. burgdorferi* in Nova Scotia. On route to Nova Scotia, tropical-wintering species of birds, (i.e. Swainson's thrush, northern waterthrush, and common yellowthroat) fly through the New England states which are endemic for *Ixodes scapularis* and Lyme disease. Interestingly, song sparrows, which overwinter in Nova Scotia, were only infested with rabbit ticks which are indigenous to the area⁽¹⁾. The first record of an *I. scapularis* (reported as *I. dammini*) removed from a bird in Canada was a nymph collected from a road-killed common yellowthroat at Windsor, Nova Scotia, in late May 1990⁽²⁾. Since then, researchers reported immature blacklegged ticks on an American robin and chipping sparrow at Thunder Cape on Sibley Peninsula, Ontario, in the late spring of 1995⁽³⁾. Of epidemiologic significance, the common yellowthroat acts as a competent reservoir for *B. burgdorferi*⁽⁴⁾. Even though random occurrence of blacklegged ticks have been previously reported in Nova Scotia, no known population has been identified. The present evidence clearly points out that spring migratory birds are involved in bringing *B. burgdorferi*-infected *I. scapularis* ticks long distances into Canada.

References

- Gregson JD. *The Ixodoidea of Canada*. Department of Agriculture of Canada, Science Service, Division of Entomology, 1956 (Publication 930):1-92.
- Bell CR, Specht HB, Coombs BA. *The search for Ixodes dammini and Borrelia burgdorferi in Nova Scotia*. Can J Infect Dis 1992;3:224-30.
- Klich M, Lankester MW, Wu KW. *Spring migratory birds (Aves) extend the northern occurrence of blacklegged tick (Acari: Ixodidae)*. J Med Entomol 1996;33:581-85.

Il s'agit du premier isolement de *B. burgdorferi* provenant d'une tique à pattes noires retirée d'un oiseau migrateur au Canada. En fait, il s'agit du premier isolement de *B. burgdorferi* en Nouvelle-Écosse. Lorsqu'elles se rendent en Nouvelle-Écosse, les espèces d'oiseaux qui hivernent dans les tropiques, comme la grive à dos olive, la paruline des ruisseaux et la paruline masquée traversent les États de la Nouvelle-Angleterre où *I. scapularis* et la maladie de Lyme sont endémiques. Fait intéressant, le bruant chanteur, qui passe l'hiver en Nouvelle-Écosse, n'était porteur que de tiques du lapin, qui sont indigènes dans cette région⁽¹⁾. Le premier cas signalé de *I. scapularis* (rapporté à l'époque comme *I. dammini*) provenant d'un oiseau au Canada était une nymphe provenant d'une paruline masquée retrouvée morte sur la route à Windsor, en Nouvelle-Écosse, à la fin de mai 1990⁽²⁾. Depuis lors, des chercheurs ont indiqué qu'ils avaient trouvé des tiques à pattes noires immatures sur un merle d'Amérique et un bruant familier à Thunder Cape, sur la péninsule de Sibley, en Ontario, à la fin du printemps de 1995⁽³⁾. Fait important du point de vue épidémiologique, la paruline masquée est un réservoir compétent de *B. burgdorferi*⁽⁴⁾. Bien que la présence de tiques à pattes noires ait déjà été signalée en Nouvelle-Écosse, aucune population connue n'a été identifiée. Ces données montrent clairement que les oiseaux migrateurs du printemps sont responsables de l'importation de tiques *I. scapularis* infectées par *B. burgdorferi* au Canada.

Références

- Gregson JD. *The Ixodoidea of Canada*. Ministère de l'Agriculture du Canada, Services scientifiques, Division de l'entomologie, 1956 (Publication 930):1-92.
- Bell CR, Specht HB, Coombs BA. *The search for Ixodes dammini and Borrelia burgdorferi in Nova Scotia*. Can J Infect Dis 1992;3:224-30.
- Klich M, Lankester MW, Wu KW. *Spring migratory birds (Aves) extend the northern occurrence of blacklegged tick (Acari: Ixodidae)*. J Med Entomol 1996;33:581-85.

4. Anderson JF, Johnson RC, Magnarelli LA et al. *Involvement of birds in the epidemiology of the Lyme disease agent **Borrelia burgdorferi***. Infect Immun 1986;51:394-96.

Source MG Morshed, PhD, RSM (CCM), Head, Vector-borne Diseases Laboratory, BCCDCS, Vancouver, B.C.; JD Scott, BSc (Agr.), President, Lyme Disease Association of Ontario, Fergus, Ont.; SN Banerjee, PhD, M. Banerjee, Department of Pathology and Laboratory Medicine, University of British Columbia, Vancouver, B.C.; T Fitzgerald, BSc, Atlantic Bird Observatory, Department of Biology, Acadia University, Wolfville, N.S.; K Fernando, MSc, R Mann, RT, Vector-borne Diseases Laboratory, J Isaac-Renton, MD, PhD, FRCPC, Director, Provincial Laboratory, BCCDCS, Vancouver, B.C.

4. Anderson JF, Johnson RC, Magnarelli LA et coll. *Involvement of birds in the epidemiology of the Lyme disease agent **Borrelia burgdorferi***. Infect Immun 1986;51:394-96.

Source : MG Morshed, PhD, RSM (CCM), Chef, Vector-borne Diseases Laboratory, BCCDCS, Vancouver, (C.-B.); JD Scott, BSc, (Agr.), Président, Lyme Disease Association of Ontario, Fergus (Ont.); SN Banerjee, PhD, M Banerjee, Department of Pathology and Laboratory Medicine, University of British Columbia, Vancouver (C.-B.); T Fitzgerald, BSc, Atlantic Bird Observatory, Department of Biology, Acadia University, Wolfville (N.-É.); K Fernando, MSc, R Mann, RT, Vector-borne Diseases Laboratory, D' J Isaac-Renton, PhD, FRCPC, Directeur, Laboratoire provincial, BCCDCS, Vancouver (C.-B.).

Published in: Canada Communicable Disease Report 1999; 25: 153-155