

ISOLATION OF *BORRELIA BURGDORFERI* ON MAINLAND ONTARIO

Borrelia burgdorferi, the causal organism of Lyme disease, has been isolated from a black-legged tick, *Ixodes scapularis*, that was removed from a dog at Kenora, Ontario. This is the first time that *B. burgdorferi* spirochetes have been isolated from a black-legged tick on mainland Ontario.

On 28 October, 1993, a live, partially engorged, female black-legged tick was removed from a dog in Kenora, 50 km east of the Manitoba border. The dog had never been out of the town. The Kenora Veterinary Clinic submitted the tick to the Vector-borne Diseases Laboratory, British Columbia Centre for Disease Control, Vancouver, British Columbia, for identification and spirochetal analysis and it was positively identified as *Ixodes scapularis*.

In the laboratory, the tick was surface sterilized. Using micro-surgery, the midgut contents were put on Barbour-Stonner-Kelly (BSK) II culture medium. Within 2 weeks, motile spirochetes were isolated and observed by dark-field microscopy. The isolate was immunostained with monoclonal antibodies and was positive for OspA, OspB, P39, and flagellin of *B. burgdorferi*. The spirochetes were also positive for OspA gene using the polymerase chain reaction testing. Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) analysis of this isolate was compared with B31 (type specimen) and eight *B. burgdorferi* isolates from British Columbia separated on the same gel and was found to be similar. DNA sequencing of the 16S rRNA gene of this isolate shows similarity to that of the *B. burgdorferi* B31 strain. On the basis of all the tests on this isolate, the spirochete was confirmed to be *B. burgdorferi* sensu stricto.

Blood samples taken from the dog at 4, 17, and 28 weeks after the tick was removed tested positive for *B. burgdorferi* using the indirect immunofluorescence assay; the titre values were 1:256, 1:256 and 1:512, respectively. The Western blot (WB) result for the sample taken 4 weeks after the tick was removed was negative; the WB for the 28-week sample was positive. No WB test was done on the middle sample.

From 1984 to the end of 1994 there were 205 cases of Lyme disease reported to the Ontario Ministry of Health. Of these 205 cases,

ISOLEMENT DE *BORRELIA BURGDORFERI* EN ONTARIO (PARTIE CONTINENTALE)

Borrelia burgdorferi, l'organisme responsable de la maladie de Lyme, a été isolé à partir d'une tique occidentale à pattes noires, *Ixodes scapularis*, prélevée sur un chien à Kenora, en Ontario. C'est la première fois que des spirochètes de *B. burgdorferi* ont été isolés à partir d'une tique occidentale à pattes noires dans cette province (partie continentale).

Le 28 octobre 1993, on a prélevé une tique femelle vivante, partiellement gorgée de sang, de l'espèce occidentale à pattes noires sur un chien de Kenora, à 50 km à l'est de la frontière du Manitoba. Le chien n'était jamais sorti de la ville. La *Kenora Veterinary Clinic* a envoyé la tique au *Vector-borne Diseases Laboratory* du *Centre for Disease Control* de la Colombie-Britannique à Vancouver (Colombie-Britannique) pour que l'on y procède à l'identification du spécimen et à la recherche de spirochètes. La tique y a été formellement identifiée comme étant *Ixodes scapularis*.

Au laboratoire, la tique a été stérilisée en surface, puis, par microchirurgie, le contenu de son intestin moyen a été transféré sur le milieu de culture Barbour-Stonner-Kelly (BSK) II. En moins de 2 semaines, des spirochètes mobiles ont été isolés et observés au microscope à fond noir. L'isolat a été marqué par la méthode immunologique à l'aide d'anticorps monoclonaux, ce qui a révélé la présence d'OspA, d'OspB, de P39 et de flagelline de *B. burgdorferi*. L'amplification à la polymérase a également mis en évidence le gène OspA. Après comparaison, il s'est avéré que cet isolat, analysé par électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de dodécyl sulfate de sodium, était semblable à l'échantillon type B31 et à huit isolats de *B. burgdorferi* de la Colombie-Britannique séparés sur le même gel. La séquence d'ADN du gène ARN 16S r de cet isolat montre certaine similitude avec la souche B31 de *B. burgdorferi*. Toutes les analyses effectuées sur cet isolat ont confirmé que le spirochète était bel et bien *B. burgdorferi*.

Des échantillons de sang ont été prélevés sur le chien à 4, 17 et 28 semaines après l'extraction de la tique occidentale à pattes noires et se sont révélés positifs à l'égard de *B. burgdorferi* au test d'immunofluorescence indirecte; les titres étaient de 1:256, 1:256 et 1:512, respectivement. Le résultat de l'épreuve Western blot (WB) réalisée sur l'échantillon prélevé 4 semaines après l'extraction de la tique était négatif; par contre, l'échantillon prélevé à 28 semaines était positif en WB. Aucune épreuve WB n'a été effectuée sur l'échantillon prélevé à 17 semaines.

De 1984 à la fin de l'année 1994, 205 cas de la maladie de Lyme à *B. burgdorferi* ont été signalés au ministère de la Santé de l'Ontario. Dans 105

105 were contracted in Ontario, and only 14 of these 105 patients had been at Long Point, Ontario, which is a known endemic area for Lyme disease (Dr. C. LeBer, Disease Control Service, Ontario Ministry of Health, Toronto: personal communication, 1995).

There are over 65 locations across Ontario (as of the end of 1994) where black-legged ticks have been found and documented. The black-legged tick from Kenora is the farthest north that one has been reported in Ontario. Three engorged adult female ticks collected in and near the city of Thunder Bay, Ontario, were identified and reported as *I. dammini* in 1991⁽¹⁾.

In Canada, as of the end of 1994, black-legged ticks have been reported in over a total of 250 locations in Manitoba, Ontario, Quebec, Nova Scotia, New Brunswick, Newfoundland, and Prince Edward Island⁽²⁾. The first black-legged tick was reported in 1904 on a human in Bracebridge, Ontario⁽³⁾.

Birds are known to carry ticks hundreds of kilometres on their migratory flight path. Not only do they carry infected ticks, some birds carry *B. burgdorferi* infection systemically in their bodies. Robins and house wrens are known to be competent hosts of *B. burgdorferi*.

In 1993 and 1994, the Lyme-Borreliosis Support Group of Ontario conducted a tick collection project asking veterinarians to submit any specimens from their practices. These ticks were recorded and sent for spirochetal analysis. This study is continuing in 1995.

References

1. Lankester MW, Potter WR, Lindquist EE et al. *Deer tick (Ixodes dammini) identified in northwestern Ontario*. CDWR 1991;17:260,263.
2. Scott JD, Banerjee SN, Christensen CI et al. *Lyme disease vector, Ixodes scapularis, has widespread distribution outside Long Point, Ontario*. Poster presented at the VIII Annual International Scientific Conference on Lyme Borreliosis, Vancouver, BC, April 28-29, 1995.
3. Nuttall GHF, Warburton C. *Ticks. A monograph of Ixodoidea*. Part II. *Ixodoidea*. London, U.K.: Cambridge University Press, 1911.

Source: SN Banerjee, PhD, Head, Vector-borne Diseases Laboratory, BC Centre for Disease Control and the Department of Pathology and Laboratory Medicine, University of British Columbia, Vancouver, British Columbia; CI Christensen, DVM, Kenora Veterinary Clinic, Kenora, JD Scott, BSc, President, Lyme-Borreliosis Support Group of Ontario, Fergus, Ontario.

des 205 cas, la maladie avait été contractée en Ontario et seulement 14 de ces 105 patients étaient allés à Long Point, en Ontario, une région où cette maladie est endémique. (Dr C. LeBer, Service de lutte contre la maladie, Ministère de la santé de l'Ontario (Toronto) : communication personnelle, 1995).

À la fin de l'année 1994, on a décelé la présence de tiques occidentales à pattes noires dans plus de 65 localités de l'Ontario et consigné les données pertinentes. Jamais, on ne faisait mention de voyages. Kenora est la localité la plus septentrionale de cette province où la présence de cette espèce de tique a été signalée. Trois tiques femelles adultes gorgées de sang recueillies dans la ville de Thunder Bay (Ontario) ou dans les alentours ont été identifiées et classées dans le groupe *I. dammini* en 1991⁽¹⁾.

À la fin de l'année 1994, des tiques occidentales à pattes noires avaient été signalées au Canada dans plus de 250 localités au Manitoba, en Ontario, au Québec, en Nouvelle-Écosse, au Nouveau-Brunswick, à Terre-Neuve et dans l'Île-du-Prince-Édouard⁽²⁾. La première tique occidentale à pattes noires à avoir été signalée a été trouvée sur un être humain en 1904 à Bracebridge, en Ontario⁽³⁾.

On sait que les oiseaux transportent des tiques sur des centaines de kilomètres le long de leurs voies migratoires. Non seulement ils sont porteurs de tiques infectées, mais certains d'entre eux sont également porteurs de l'infection systémique à *B. burgdorferi*. Le rouge-gorge et le troglodyte familier sont des hôtes compétents pour *B. burgdorferi*.

En 1993 et 1994, le *Lyme-Borreliosis Support Group of Ontario* a mené une campagne de récolte de tiques. Ses représentants ont demandé aux vétérinaires de leur faire parvenir toutes les tiques qu'ils trouveraient chez leurs clients. Ces tiques ont été enregistrées et envoyées au laboratoire pour la recherche de spirochètes. Cette étude se poursuit en 1995.

Références

1. Lankester MW, Potter WR, Lindquist EE et coll. *Tiques de chevreuil (Ixodes dammini) trouvées dans le nord-ouest de l'Ontario*. RHMC 1991;17:260,263.
2. Scott JD, Banerjee SN, Christensen CI et coll. *Ixodes scapularis, le vecteur de la maladie de Lyme est largement répandu en dehors de la région de Long Point, en Ontario*. Affiche présentée à la VIII^e Conférence scientifique internationale annuelle sur la maladie de Lyme, Vancouver, C.-B., 28 et 29 avril 1995.
3. Nuttall GHF, Warburton C. *Ticks. A monograph of Ixodoidea*. Part II. *Ixodoidea*. London U.K.: Cambridge University Press. 1911.

Source : SN Banerjee, PhD, chef, Vector-borne Diseases Laboratory, Centre for Disease Control de Colombie-Britannique et Department of Pathology and Laboratory Medicine, University of British Columbia, Vancouver (Colombie-Britannique); CI Christensen, DMV, Kenora Veterinary Clinic (Kenora); JD Scott, BSc, président, Lyme-Borreliosis Support Group of Ontario, Fergus (Ontario).