

MISE EN EVIDENCE DU VIRUS DE LA MALADIE DE BORNA EN FRANCE*

Gwenaëlle Dauphin¹ et S. Zientara¹

RESUME : La maladie de Borna est connue depuis longtemps en Europe centrale comme une méningoencéphalomyélite d'origine virale affectant les chevaux et moutons. Au cours des dix dernières années, l'épidémiologie de la maladie a été révisée puisque sa répartition géographique s'avère plus large que rapportée jusqu'alors. Elle peut affecter un grand nombre d'espèces animales à sang chaud, y compris l'Homme. L'agent étiologique, virus à ARN négatif simple brin enveloppé, récemment classé dans la nouvelle famille des Bornaviridae (ordre des Mononegavirales), peut induire des signes cliniques sévères d'encéphalite virale avec des troubles comportementaux importants et pouvant entraîner la mort de l'animal.

Une recherche du virus par RT-nested-PCR menée en France sur 196 prélèvements d'animaux (171 cerveaux de différentes espèces animales et 25 prélèvements de sang) a révélé la présence d'ARN du virus dans 10 prélèvements de cerveaux de bovins, chevaux et renards ainsi que dans 14 prélèvements de sang de chevaux. Ces résultats constituent à la fois la première détection du virus de la maladie de Borna en France et sa première mise en évidence chez le renard.

SUMMARY : The Borna disease has been described for a long time as a sporadically occurring encephalomyelitis affecting horses and sheep. Since the last decade, the BD epidemiology has been discussed; its geographical distribution seems larger than previously thought. The disease can affect a large number of warm-blooded animal species, including humans. The aetiological agent, the Borna disease virus (BDV), an enveloped, nonsegmented negative-stranded RNA virus classified in the new virus family Bornaviridae (Mononegavirales order) can induce severe clinical signs of a encephalitis with striking behavioural disturbances, causing possible death.

A study based on BDV RNA detection by RT-nested-PCR has been achieved in France with 196 animal tissues : 171 brain samples collected from different animal species and from 25 horse blood samples. This study reports the first detection in France of BDV RNA in ten brain samples collected from horses, foxes and cattle, and from fourteen horse blood samples. Detection of BDV genome in brains of six red foxes is the first evidence of BDV infection in this species.



I - DESCRIPTION DE LA MALADIE DE BORNA

1. ETIOLOGIE, HISTORIQUE

La maladie de Borna a été décrite pour la première fois à la fin du XVIII^e siècle dans le sud de l'Allemagne. Elle doit son nom à la ville de Borna en Saxe où elle décima une centaine de chevaux de cavalerie en 1895 [Dürwald et Ludwig, 1997]. L'étiologie virale de la maladie a été démontrée au début du 19^e siècle [Zwick

et al., 1939]. L'agent de la maladie de Borna a été récemment caractérisé : le virus de la maladie de Borna (BDV) est un virus à ARN négatif, simple brin, enveloppé et non segmenté. Il a également été séquencé et classé dans une nouvelle famille des *Bornaviridae*, de l'ordre des *Mononegavirales* [Cubitt et de la Torre, 1994 ; Briese et al., 1994].

* Texte de l'exposé présenté lors de la Journée AEEMA, 18 mai 2001

¹ AFSSA Alfort, 22 rue Pierre Curie, 94703 Maisons-Alfort cedex, France

Le BDV est un virus neurotrope non cytolitique, se répliquant à des niveaux très faibles et persistant dans le système nerveux central [Ludwig *et al.*, 1988 ; Richt *et al.*, 1992]. Le génome ARN du BDV a la particularité de montrer une extraordinaire stabilité [Schneider *et al.*, 1994 ; Herzog *et al.*, 1997 ; Richt *et al.*, 1997 ; Staeheli *et al.*, 2000] (95% de conservation). De faibles variations de séquences permettent cependant de distinguer les souches de laboratoire des

souches sauvages de différentes provenances [Schwemmle *et al.*, 1999]. Très récemment, un nouveau génotype issu d'un cheval autrichien a fait l'exception à cette règle puisqu'il présentait une variabilité génétique de 15% avec les autres souches de BDV, mais la stabilité était encore très conservée au niveau protéique [Nowotny *et al.*, 2000]. La représentation schématique du BDV et l'organisation de son génome sont présentées figures 1 et 2.

FIGURE 1
Représentation schématique du BVD [Gonzalès-Dunia, 1998]

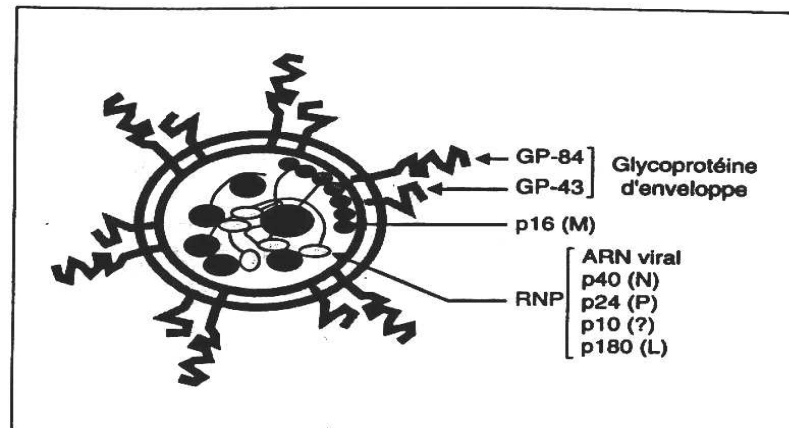
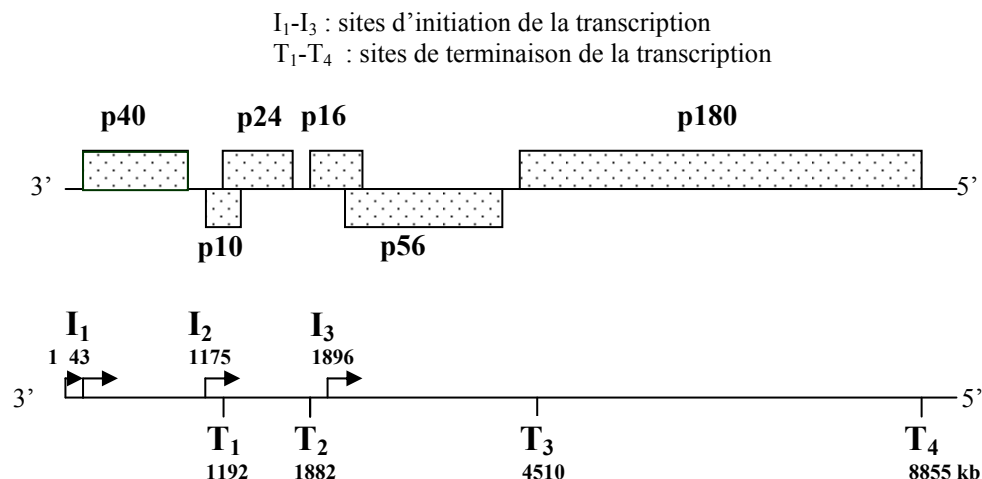


FIGURE 2
Organisation du génome du BDV



2. SPECTRE D'HOTES ET REPARTITION GEOGRAPHIQUE

La maladie de Borna a été décrite à l'origine uniquement chez des chevaux et des moutons, mais d'autres espèces animales à sang chaud peuvent également être infectées, telles que les bovins [Hagiwara *et al.*, 1996], chèvres, lapins, chiens

[Weissenböck *et al.*, 1998], chats [Lundgren *et al.*, 1995 ; Reeves *et al.*, 1998], et une variété d'autres espèces comme les autruches [Malkinson *et al.*, 1995], chevreuils, singes, alpagas, lamas [Rott and Becht, 1995 ; Richt *et al.*, 1997] et récemment les lynx [Degiorgis *et al.*, 2000] et renards [Dauphin *et al.*, 2001]. De plus, des marqueurs spécifiques du BDV ont

été détectés chez l'homme ces 10 dernières années, en particulier chez les patients psychiatriques [Staeheli *et al.*, 2000 ; Richt et Rott, 2001]. Cependant, l'aspect zoonotique de la maladie de Borna est encore extrêmement controversé [Schwemmle *et al.*, 1999 ; Richt et Rott, 2001 ; Staeheli *et al.*, 2000].

La maladie de Borna a été observée pendant longtemps uniquement en Europe centrale, en particulier en Allemagne [Richt *et al.*, 1997]. Aujourd'hui, la distribution géographique de la maladie est encore incertaine, mais des infections ont été décrites au nord de l'Europe, aux Etats-Unis, Japon, Iran et Israël [Kao *et al.*, 1993 ; Herzog *et al.*, 1997 ; Nakamura *et al.*, 1995]. Toutefois, la maladie clinique chez les chevaux et les moutons n'a encore été rapportée que dans la région enzootique d'Europe centrale ; aucun cas clinique de maladie de Borna n'a été confirmé en dehors de cette région [Richt et Rott, 2001].

La maladie de Borna est une maladie rare et d'apparition sporadique, et sans doute non systématiquement diagnostiquée principalement à cause de son caractère souvent cliniquement inapparent. Il semble que 11,5% des chevaux allemands sains présentent une sérologie positive vis-à-vis de la maladie de Borna [Herzog *et al.*, 1994] et 22,5% dans les régions enzootiques de l'Allemagne [Richt et Rott, 2001].

3. SIGNES CLINIQUES

L'infection naturelle se manifeste principalement chez les chevaux et moutons ; elle est associée à des troubles nerveux et comportementaux. Chez le cheval, une faible proportion d'animaux présentent des signes cliniques. Dans les troupeaux de moutons par contre, la maladie affecte une grande proportion d'animaux. Les manifestations cliniques chez les animaux infectés naturellement ou expérimentalement dépendent de l'espèce infectée et de la souche virale. La période d'incubation est variable, entre 2 semaines et quelques mois.

La maladie de Borna chez le cheval se traduit simultanément ou consécutivement par des troubles du comportement, de la sensibilité et de la mobilité du système nerveux autonome [Dürwald et Ludwig, 1997]. La phase initiale de la maladie se manifeste par des signes non spécifiques comme hyperthermie, anorexie, coliques et constipation. Pendant la phase aiguë, les signes nerveux apparaissent avec des activités motrices répétitives : hyperexcitabilité,

agressivité, léthargie, somnolence, stupeur, ataxie, postures anormales, déficit proprioceptif, et en phase finale, des paralysies et convulsions suivies de la mort. La maladie clinique dure d'une à trois semaines et le taux de létalité atteint 80 à 100%. Chez les animaux qui survivent à la phase aiguë de la maladie, des épisodes récurrents peuvent apparaître tout au long de la vie de l'animal (en raison du caractère persistant du virus), tels que dépression, apathie, somnolence, crainte, en particulier après des stress [Dürwald et Ludwig, 1997 ; Richt et Rott, 2001].

4. MODES DE TRANSMISSION

Le virus est transmis via les sécrétions salivaires, nasales et conjonctivales [Richt *et al.*, 1997]. La contamination a lieu par voie olfactive, soit par contact direct avec ces sécrétions, soit par l'alimentation ou l'eau contaminée, mais les connaissances sont encore limitées sur cette question.

La maladie de Borna est d'apparition enzootique et saisonnière ; son incidence augmente au printemps et au début de l'été [Dürwald et Ludwig, 1997 ; Richt *et al.*, 1997]. De plus, l'absence de mutation génomique spécifique d'espèce entre les souches de BDV issues de chevaux, moutons et autres animaux de ferme évoque une source virale commune [Staeheli *et al.*, 2000 ; Richt et Rott, 2001]. Les rongeurs sont des réservoirs et des vecteurs potentiels du virus, mais leur rôle dans l'épidémiologie de la maladie de Borna n'a pas été prouvé. D'autre part, de nombreux animaux séropositifs, cliniquement sains ou avec des infections subcliniques, peuvent constituer des sources potentielles d'infection pour d'autres animaux, et éventuellement l'homme [Richt *et al.*, 1997].

5. DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL

Il est important de faire le diagnostic différentiel de la maladie de Borna chez le cheval avec la rage, les infections par le virus Herpès, l'encéphalite à tiques, le botulisme, les méningites bactériennes, les encéphalomyélites virales (West Nile) et parasitaires [Richt et Rott, 2001].

Le diagnostic différentiel de la maladie de Borna est l'encéphalopathie spongiforme bovine pour les bovins et la tremblante pour les moutons, bien que l'évolution de la maladie de Borna soit beaucoup plus courte.

II - DIAGNOSTIC DE LA MALADIE DE BORNA

Le diagnostic est un point à développer dans le domaine du BDV, principalement à cause des faibles niveaux de réplication et d'excrétion du virus. Bien qu'une grande variété de techniques diagnostiques ait été développée, aucune standardisation n'est encore établie et de grandes différences et contradictions ont été observées entre les résultats publiés (en particulier pour les résultats d'enquêtes sérologiques) [Richt et Rott, 2001 ; Staeheli *et al.*, 2000]. Les essais interlaboratoires sont encore rares et contradictoires [Hatalski *et al.*, 1997].

La maladie de Borna peut être diagnostiquée par sérologie, détection d'antigène, PCR ou isolement du virus, mais aucune méthode n'est suffisante à elle seule pour effectuer un diagnostic de certitude.

1. LE DIAGNOSTIC CLINIQUE

Le tableau clinique de la maladie de Borna est constitué d'une grande variété de signes cliniques, mais qui sont non spécifiques. De plus, la concentration des protéines et la quantité de LCR sont légèrement modifiées au cours de la phase aiguë, en raison de l'encéphalite. Cependant, ces indicateurs sont non spécifiques de la maladie de Borna [Staeheli *et al.*, 2000 ; Richt et Rott, 2001].

2. LE DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE

Il permet le diagnostic sur un animal vivant, par recherche des anticorps dans le sang et/ou le LCR par Western blot, ELISA et immunofluorescence indirecte (IFI). C'est l'IFI qui paraît actuellement la méthode la plus fiable, mais les résultats inter-laboratoires sont très variables, en partie à cause de niveaux de sensibilité différents des systèmes cellulaires [Staeheli *et al.*, 2000]. Les taux d'anticorps sont le plus souvent très faibles [Katz *et al.*, 1998 ; Staeheli *et al.*, 2000]. Les anticorps sont détectables dans 100% des cas au cours de la maladie aiguë, mais ils sont difficilement détectables dans le cas d'une maladie subaiguë ou chronique.

3. LE DIAGNOSTIC HISTO-PATHOLOGIQUE

Des degrés variables d'encéphalite sont observables, en particulier avec des infiltrations de lymphocytes en zones périvasculaires et parenchymateuses. Les corps d'inclusions de Joest-Degen situés dans les noyaux des neurones sont spécifiques du BDV, mais ils ne sont pas présents systématiquement [Gosztonyi et Ludwig, 1995].

La sensibilité de la technique histologique peut être améliorée par l'immunohistochimie, par la visualisation des antigènes majeurs du BDV : p24 (nucléoprotéine) et p40 (phosphoprotéine), à l'aide d'anticorps monoclonaux ou polyclonaux. Cependant, la répartition des cellules infectées dans le cerveau est très hétérogène, et la détection des cas de Borna peut donc parfois échapper à la détection [Caplazi et Ehrensperger, 1998]. Enfin, la recherche d'ARN de BDV par hybridation *in situ* peut également compléter l'histologie.

4. LE DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

4.1. ISOLEMENT VIRAL

Les méthodes classiques d'isolement viral à partir de tissu cérébral sont peu concluantes à cause du faible nombre de particules infectieuses produites et de la forte association du virus avec la membrane plasmique [Hatalski *et al.*, 1997 ; Staeheli *et al.*, 2000].

4.2. RT-PCR OU RT-NESTED-PCR

Elle peut être appliquée sur le cerveau ou sur le sang. Cependant, cette technique extrêmement sensible pose des problèmes de contamination croisée entre les échantillons et de contamination de laboratoire. D'autre part, cette technique ne pourra pas détecter des génotypes variants ayant des modifications de séquences dans le gène cible. Ceci a été le cas pour le nouveau génotype identifié par Nowotny *et al.* [2000].

III - RECHERCHE DU BDV EN FRANCE

1. RT-NESTED-PCR ET CONSTRUCTION D'UN TEMOIN INTERNE

A l'AFSSA Alfort, un test de RT-nested-PCR a été développé afin de détecter la présence des fragments des gènes codant pour les protéines majeures p24 et p40 du BDV [Legay *et al.*, 2000]. Les fragments du BDV amplifiés après les deux PCR successives sont de

528 pb pour la p40 et 391 pb pour la p24. Afin de vérifier le bon déroulement de la réaction de RT-nested-PCR dans chaque tube de réaction et d'éviter l'emploi d'un témoin positif de BDV, qui pourrait poser des problèmes de contamination, des témoins internes (ou "mimics") ont été construits pour p24 et p40 [Legay *et al.*, 2000] (figures 3 et 4). La RT-nested-PCR a été appliquée sur 171 cerveaux d'animaux et 25

prélèvements de sang de chevaux (tableau I). Les résultats sont présentés dans le tableau II. Certains produits d'amplification ont pu être séquencés et les séquences génomiques comparées [Dauphin *et al.*, 2001]. Les divergences de séquence entre nos séquences BVD et les séquences de souches de

référence oscillent 0 et 6,5%. Ce degré de variabilité est en accord avec ceux décrits dans des études précédentes [Binz *et al.*, 1994 ; Iwata *et al.*, 1998 ; Schneider *et al.*, 1994 ; Vahlenkamp *et al.*, 2000 ; Staeheli *et al.*, 2000].

FIGURE 3
Représentation schématique des étapes de construction des "mimics"

T7 : séquence promotrice T7 ; 1 : amorces sens externes du BDV ; 2 : amorces sens internes du BDV ;
 3 : amorces sens de l'AHSV (virus de la peste équine); 3' : amorces antisens de l'AHSV; 2' : amorces antisens internes du BDV;
 1' : amorces antisens externes du BDV.

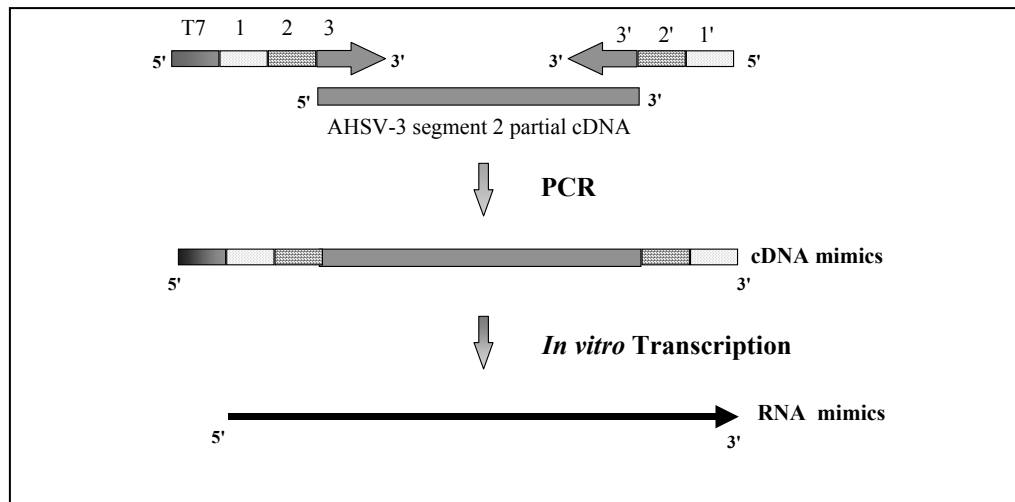


FIGURE 4
Résultat de RT-nested-PCR sur des cerveaux pour la recherche du gène BDV-p40
(avec témoin interne ou mimic)

Puits 1, 1', 24, 18' ; marqueur moléculaire VI
 Puits 8 et 21 : témoin négatif d'extraction (ARN extrait de cellules non infectées);
 Puits 23 : témoin négatif de RT-nested PCR
 Autres puits : cerveaux de chevaux (2 puits par cerveau)
 Puits 14, 19, 15' : cerveaux contenant le gène p40 du BDV

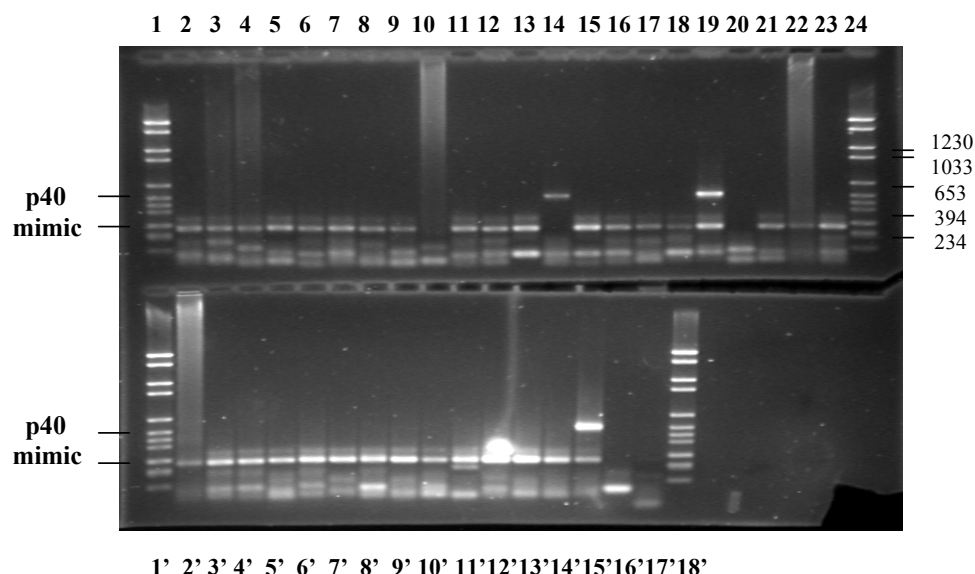


TABLEAU I
Origine des prélèvements de sang et cerveaux testés par RT-nested-PCR
 [Dauphin *et al.*, 2001]

Prélèvements	Espèce animale	Origine
171 cerveaux	72 chevaux 3 foals	67 chevaux : AFSSA Dozulé 3 foals et 5 chevaux : LVD de Caen - échantillons sélectionnés de manière aléatoire - chevaux avec des troubles nerveux non spécifiques
	59 renards	40 : LVD de Caen (négatifs à <i>Neospora caninum</i>) 19 : AFSSA Nancy (négatifs pour la rage)
	31 bovins	30 : AFSSA Lyon (négatifs pour l'EBS) 1 : LVD de Caen
	4 chiens	3 chiens : AFSSA Nancy (négatifs pour la rage) 1 chien du LVD de Caen
	1 chevreuil 1 mouton	AFSSA Nancy (négatifs pour la rage)
25 prélèvements de sang	25 chevaux	- prélevés par des vétérinaires praticiens 22 prélèvements : la plupart des chevaux avec des troubles nerveux, dont 3 chevaux prélevés à 6 mois d'intervalle 3 prélèvements : chevaux à sérologie précédemment positive [Galabru <i>et al.</i>, 2000]

TABLEAU II
Résultats de la recherche d'ARN de BDV dans des prélèvements animaux

	Espèce	Symptômes	Résultats PCR p40/p24
Cerveaux	1 bovin	Symptômes nerveux	p40
	6 renards	Absence de commémoratifs	p40 ou p24
	1 cheval	Syndrome de Wobbler	p40 et p24
	2 chevaux	Absence de symptôme nerveux	p40 ou p24
Sang	3 chevaux	Avec/sans symptômes nerveux	p40 et p24
	11 chevaux	Avec/sans symptômes nerveux	p40 ou p24

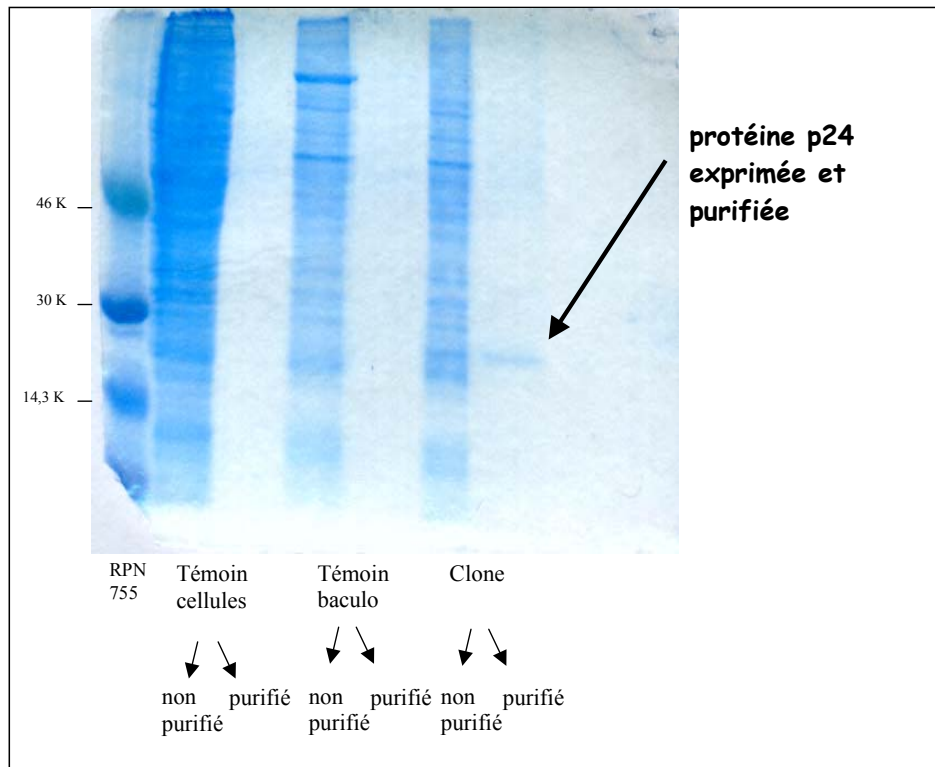
2. MISE AU POINT D'UN TEST ELISA POUR LA RECHERCHE D'ANTICORPS ANTI-BORNA

Les gènes p24 et p40 du BDV ont été clonés dans un vecteur d'expression, puis intégrés dans l'ADN du baculovirus et exprimés par des cellules d'insecte en culture. Les protéines récoltées ont été purifiées et

utilisées comme antigènes pour la réalisation d'un test ELISA, en cours de mise au point. Ce test sérologique sera comparé avec des tests sérologiques disponibles, dans un souci de standardisation des techniques.

La protéine p24 produite par des cellules d'insecte et purifiée est visualisée sur la figure 5 .

FIGURE 5
Production, récolte et purification de la protéine p24 du BVD



IV - CONCLUSION

La maladie de Borna prend une importance croissante dans le monde scientifique de par son large spectre d'hôtes, sa large répartition géographique, son caractère d'éventuelle zoonose émergente, et de par son diagnostic différentiel avec des maladies d'importance comme l'ESB, la tremblante, la rage, l'infection à virus West Nile. Cependant, des progrès sont nécessaires en terme de diagnostic, aussi bien sérologique que viral. Il y a en particulier un besoin

évident de standardisation des techniques afin d'évaluer l'importance réelle de cette maladie chez l'homme et l'animal.

Notre étude a permis de mettre en évidence pour la première fois le virus de la maladie de Borna en France. Elle constitue également la première détection de virus de la maladie de Borna chez le renard.

V - BIBLIOGRAPHIE

- Binz T., Lebelt J., Niemann H. and Hagenau K. ~ Sequence analysis of the p24 gene of Borna disease virus in naturally infected horse, donkey and sheep. *Virus Res.*, 1994, **34**, 281-289.
- Briese T., Schneemann A., Lewis A.J., Park Y.S., Kim S., Ludwig H. and Lipkin W.I. ~ Genomic organization of Borna Disease Virus. *Proc. Natl Acad. of Sci.*, USA, 1994, **91**, 4362-4366.
- Caplazi P. and Ehrensperger F. ~ Spontaneous Borna disease in sheep and horses: immunophenotyping of inflammatory cells and detection of MHC-I and MHC-II antigen expression in Borna encephalitis lesions. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1998, **27**, 61, 203-20.

- Cubitt B. and de la Torre J.C. ~ Borna Disease Virus (BDV), a nonsegmented RNA virus, replicates in the nuclei of infected cells where infectious BDV ribonucleoproteins are present. *J. Virol.*, 1994, **68**, 1371-1381.
- Degiorgis M.P., Berg A.L., Hard C., Segerstad A.F., Morner T., Johansson M. and Berg M. ~ Borna disease in a free ranging lynx (*Lynx lynx*). *J. Clin. Microbiol.*, 2000, **38**, 3087-3091.
- Dauphin G., Legay V., Sailleau C., Smondack S., Hammoumi S. and Zientara S. ~ Evidence of Borna disease virus genome detection in French domestic animals and in foxes (*Vulpes vulpes*). *J. Gen. Virol.*, 2001, **82**, 2199-204.
- Dürwald R. and Ludwig H. ~ Borna disease virus (BDV), a (zoonotic?) worldwide pathogen. A review of the history of the disease and the virus infection with comprehensive bibliography. *J. Vet. Med.*, 1997, **44**, 147-184.
- Galabru J., Saron M.F., Berg M., Berg A.L., Herzog S., Labie J. and Zientara S. ~ Borna Disease Virus antibodies in French Horses. *Vet. Rec.*, 2000, **147**, 721-722.
- Gonzalez-Dunia D. ~ Le virus de la maladie de Borna. *Virologie*, 1998, **2**, 191-198.
- Gosztonyi G. and Ludwig H. ~ Borna disease--neuropathology and pathogenesis. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 1995, **90**, 39-73.
- Hagiwara K., Nakaya T., Nakamura Y., Asahi S., Takahashi H., Ishihara C. and Ikuta K. ~ Borna Disease Virus RNA in peripheral blood mononuclear cells obtained from healthy dairy cattle. *Med. Microbiol. Immunol.*, 1996, **185**, 145-151.
- Hatalski C.G., Lewis A.J. and Lipkin W.I. ~ Borna Disease. *Emerg. Infect. Dis.*, 1997, **3**, 129-135.
- Herzog S., Frese K., Richt J.A. and Rott R. ~ Ein Beitrag zur Epizootiologie der Bornaschen Krankheit beim Pferd. *Wiener Tierärztlche Monatsschrift*, 1994, **81**, 374-379.
- Herzog S., Pfeuffer I., Haberzettl K., Feldmann H., Frese K., Bechter K. and Richt J.A. ~ Molecular characterization of Borna disease virus from naturally infected animals and possible links to human disorders. *Arch. Virol.*, 1997, **13**, 183-190.
- Iwata Y., Takahashi K., Peng X., Fukuda K., Ohno K., Ogawa T., Gonda K., Mori N., Niwa S.I. and Shigeta S. ~ Detection and sequence analysis of Borna disease virus p24 RNA from peripheral blood mononuclear cells of patients with mood disorders or schizophrenia and of blood donors. *J. Virol.*, 1998, **132**, 241-244.
- Kao M., Hamir A.N., Rupprecht C.E., Fu Z.F., Shankar V., Koprowski H. and Dietzschold B. ~ Detection of antibodies against Borna disease virus in sera and cerebrospinal fluid of horses in the USA. *Vet. Rec.*, 1993, **132**, 241-244.
- Katz J.B., Alstad D., Jenny A.L., Carbone K.M., Rubin S.A. and Waltrip R.W. ~ Clinical, serologic, and histopathologic characterization of experimental Borna disease in ponies. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1998, **10**, 338-43.
- Legay V., Sailleau C., Dauphin G. and Zientara S. ~ Construction of an internal standard used in RT nested PCR for Borna Disease Virus RNA detection in biological samples. *Vet. Res.*, 2000, **31**, 565-572.
- Ludwig H., Bode L. and Gosztonyi G. ~ Borna disease: a persistent virus infection of the central nervous system. *Prog. Med. Virol.*, 1988, **35**, 107-151.
- Lundgren A., Zimmermann W., Bode L., Czech G., Gosztonyi G., Lindberg R. and Ludwig H. ~ Staggering disease in cats: isolation and characterisation of the feline Borna disease virus. *J. Gen. Virol.*, 1995, **76**, 2215-2222.
- Malkinson M., Weisman Y., Perl S. and Ashash E. ~ A Borna-like disease of ostriches in Israel. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 1995, **190**, 31-38.
- Nakamura Y., Kishi M., Nakaya T., Asahi S., Tanaka H., Sentsui H., Ikeda K. and Ikuta K. ~ Demonstration of Borna disease virus RNA in peripheral blood mononuclear cells from healthy horses in Japan. *Vaccine*, 1995, **13**, 1076-1079.
- Nowotny N., Kolodziejek J., Jehle C.O., Suchy A., Staeheli P. and Schwemmler M. ~ Isolation and characterization of a new subtype of Borna disease virus. *J. Virol.*, 2000, **74**, 5655-8.
- Reeves N.A., Helps C.R., Gunn-Moore D.A., Blundell C., Finnemore P.L., Pearson G.R. and Harbour D.A. ~ Natural Borna disease virus infection in cats in the United Kingdom. *Vet. Rec.*, 1998, **143**, 523-6.
- Richt A.J., Van de Woude S., Zink M.C., Clements J.E., Herzog S. and Stitz L. ~ Infection with Borna Disease Virus: molecular and immunobiological characterization of the agent. *Clin. Infect. Dis.*, 1992, **14**, 1240-1250.
- Richt A.J., Pfeuffer I., Christ M., Frese K., Bechter K. and Herzog S. ~ Borna Disease Virus infection in animals and humans. *Emerg. Infect. Dis.*, 1997, **3**, 343-352.
- Richt J.A. and Rott R. ~ Borna disease virus: a mystery as an emerging zoonotic pathogen. *Vet. J.*, 2001, **161**, 24-40.

- Rott R. and Becht H. ~ Natural and experimental Borna Disease in animals. *Curr. Top Microbiol. Immunol.*, 1995, **190**, 17-30.
- Schneider P.A., Briese T., Zimmermann W., Ludwig H. and Lipkin W.I. ~ Sequence conservation in field and experimental isolates of Borna disease virus. *J. Virol.*, 1994, **68**, 63-68.
- Schwemmle M., Jehle C., Formella S. and Staeheli P. ~ Sequence similarities between human bornavirus isolates and laboratory strains question human origin. *Lancet*, 1999, **354**, 1973-1974.
- Staeheli P., Sauder C., Hausmann J., Ehrensperger F. and Schwemmle M. ~ Epidemiology of Borna disease virus. *J. Gen. Virol.*, 2000, **81**, 2123-2135.
- Vahlenkamp T., Enbergs H. and Müller H. ~ Experimental and natural borna disease virus infections: presence of viral RNA in cells of the peripheral blood. *Vet. Microbiol.*, 2000, **76**, 229-244.
- Weissenböck H., Nowotny N., Caplazi P., Kolodziejek J. and Ehrensperger F. ~ Borna Disease in a dog with lethal meningoencephalitis. *J. Clin. Microbiol.*, 1998, **36**, 2127-2130.
- Zwick W. ~ Bornasche Krankheit und Enzephalomyelitis der Tiere. *Handbuch der Viruskrankheiten*, 2nd Ed, 1939, 254-354.

