

LE VIRUS DE LA MALADIE DE BORNA : UN VIRUS EMERGENT EN FRANCE ?*

Gwenaëlle Dauphin¹ et Stephan Zientara¹

RESUME : La maladie de Borna, méningo-encéphalomyélite qui affecte principalement les chevaux et moutons, est historiquement présente en Allemagne depuis 200 ans. Depuis une dizaine d'années, des études ont mis en évidence des infections par le virus Borna dans de nombreux pays du monde ainsi que chez de nombreuses espèces animales, incluant probablement l'homme. Le caractère zoonotique de la maladie est encore controversé en raison de l'insuffisance de fiabilité des techniques diagnostiques et du manque de connaissances sur la transmission du virus Borna. Nous avons mis au point à l'AFSSA Alfort une technique de RT-PCR nichée ainsi que des outils sérologiques (ELISA et Western blot) basés sur la protéine virale P recombinante exprimée en systèmes eucaryote et procaryote. L'outil moléculaire, appliqué à 206 prélèvements d'animaux présentant majoritairement des troubles nerveux, a permis de détecter de l'ARN viral dans des encéphales de bovin, renard et cheval ainsi que dans des prélèvements sanguins de chevaux. Ce résultat a constitué la première mise en évidence de génome du BDV en France. Par ailleurs, une estimation du taux de séroprévalence a été effectuée avec l'ELISA anti-P : 30% (35/119) des chevaux présentant des troubles nerveux et 9% (15/155) des chevaux cliniquement sains semblaient présenter des anticorps dirigés contre la protéine P. Ces outils diagnostiques ont également permis d'identifier les premiers cas de maladie de Borna en France. Ces résultats préliminaires montrent que le virus Borna circule en France. Toutefois, aucun élément ne permet de savoir si le BDV est un virus émergent sur notre territoire ou s'il est présent depuis longtemps en France. Enfin, le réseau de maladies nerveuses, nouvellement mis en place au sein du RESPE, devrait permettre de récolter des données utiles pour évaluer l'incidence des principales maladies nerveuses infectieuses équine en France.

SUMMARY : Borna disease, a meningo-encephalitis that affects mainly horses and sheep, was first recognised in Germany two hundred years ago. For about 10 years, studies have shown Bornavirus infections both in numerous countries and animal species, probably including humans. The zoonotic aspect of the disease is still controversial, mainly because of the lack of reliable diagnostic techniques and of detailed knowledge on viral transmission. Both molecular (RT-nested-PCR) and serological (ELISA and Western blot based on P recombinant protein expressed both in eucaryotic and procaryotic systems) methods have been developed at the AFSSA laboratory. Our molecular technique, applied on 206 brain or blood samples mainly obtained from animals with nervous disorders, has allowed the detection of viral RNA in cattle, red fox and horse brains and in equine blood samples. This result represents the first detection of BDV genome in France. Furthermore, the ELISA based on P antigen allowed to assess BDV seroprevalence rate in two horse populations : 9% in clinically healthy horses (15/155) and 30% in horses suffering from nervous disorders (35/119). Finally, the first clinical cases of Borna disease in France are described. Hence, this preliminary study has shown that BDV circulates in France. However, no information can tell if BDV is an emerging virus in France or if it has been present for a long time. The equine neurological network, recently created by the RESPE (Epidemio-surveillance Network for Equine Pathologies), should allow the collection of useful information concerning the incidence of the main infectious nervous diseases in horses.



* Communication présentée lors des Journées AEEMA-AESA, 22-23 mai 2003

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

I - PRESENTATION DE LA MALADIE DE BORNA

1. ETIOLOGIE

La maladie de Borna est une méningo-encéphalomyélite d'origine virale, affectant principalement les chevaux et moutons. Elle est connue depuis plus de 200 ans en Allemagne et elle doit son nom à la ville Borna en Saxe où eut lieu une épizootie qui décima une centaine de chevaux de cavalerie en 1895 [Dürwald et Ludwig, 1997]. L'agent étiologique de la maladie de Borna, le Borna disease virus (BDV) ou Bornavirus, est un virus à ARN négatif non enveloppé, simple brin, non segmenté. Il n'a été que récemment séquencé et caractérisé sur le plan moléculaire [Cubitt et de la Torre, 1994 ; Briese *et al.*, 1994]. En raison de son organisation génomique, il a été classé dans une nouvelle famille des *Bornaviridae*, de l'ordre des *Mononegavirales*. Contrairement à la majorité des virus à ARN, le génome du BDV semble présenter une extrême stabilité génétique [Richt *et al.*, 1997 ; Staeheli *et al.*, 2000]. En effet, les séquences nucléotidiques complètes des deux souches de référence (souches V et He/80) ont 95% de similitude, malgré leur origine et historique de passage *in vivo* et *in vitro* très différents. De plus, les changements nucléotidiques ne sont pas distribués de manière aléatoire : ils se situent fréquemment sur le 3^e codon, n'affectant pas la séquence en acides aminés. Cette extrême stabilité du virus a toutefois été remise en question lors de la mise en évidence d'un nouveau génotype (la souche No/98) isolé d'un cheval autrichien (hors de la zone enzootique d'Europe centrale), qui présente une variabilité génétique de 15% avec toutes les autres souches du BDV. Néanmoins, la séquence en acides aminés est conservée par rapport aux autres souches du BDV [Nowotny *et al.*, 2000].

2. LA MALADIE DE BORNA CHEZ LES CHEVAUX

La maladie de Borna chez le cheval entraîne des troubles variés du comportement, de la sensibilité et de la mobilité [Dürwald et Ludwig, 1997]. La phase initiale de la maladie se manifeste par des signes non spécifiques (hyperthermie, anorexie, coliques et constipation). Pendant la phase aiguë apparaissent les signes d'encéphalite : postures anormales, déficit proprioceptif, mouvements répétitifs, grincement de dents, marche en cercle, raideur de la nuque, nystagmus, strabisme, myosis associés à des réactions anormales aux stimuli extérieurs

telles que hyperexcitabilité, agressivité, léthargie, somnolence, stupeur. En phase finale, des paralysies peuvent apparaître, suivies de convulsions et de la mort. Les taux de mortalité des chevaux malades atteignent 80 à 100% [Grabner et Fischer, 1991 ; Dürwald et Ludwig, 1997 ; Richt *et al.*, 2000]. Chez les animaux qui survivent à la forme aiguë de la maladie, des épisodes récurrents peuvent apparaître tout au long de la vie de l'animal. Du virus infectieux peut d'ailleurs être isolé chez un cheval présentant la maladie chronique. Il est maintenant reconnu que les formes aiguës de la maladie ne sont pas les formes les plus courantes. Beaucoup de cas d'infection asymptomatique sont observés dans la population équine, avec occasionnellement, des modifications légères du comportement et/ou des mouvements ataxiques, suivis de la guérison de l'animal [Ludwig et Bode, 2000]. Il reste encore à déterminer si l'évolution de la maladie naturelle vers trois formes différentes (troubles légers du comportement, maladie nerveuse sévère ou infection asymptomatique) est liée à des différences de souches virales, de charge virale ou de résistance génétique de l'hôte.

3. LES LIMITES DU DIAGNOSTIC

Les difficultés à détecter une infection par le Bornavirus sont liées au fait que les charges virales sont faibles dans les tissus infectés. De plus, les titres en anticorps dirigés contre le BDV sont également faibles ainsi que l'affinité des anticorps pour les antigènes du BDV, en particulier chez l'homme. Toutefois, l'homogénéité apparente du génome du BDV a permis l'utilisation de réactifs 'universels' (amorces pour la RT-PCR, anticorps monoclonaux et antigènes recombinants) pour la détection du BDV. La maladie de Borna peut être diagnostiquée par sérologie, isolement viral, détection d'antigène, PCR, mais à l'heure actuelle aucune méthode n'a été validée par la communauté scientifique et aucune d'entre elle n'est suffisamment sensible et spécifique pour permettre à elle seule un diagnostic de certitude. Les essais interlaboratoires sont encore rares et les écarts de résultats entre les laboratoires encore importants. La souche No/98 isolée par Nowotny *et al.* [2000] n'a pas pu être amplifiée avec les amorces utilisées classiquement en RT-PCR. La découverte de ce nouveau génotype ouvre donc de nouvelles questions car il est possible d'émettre l'hypothèse qu'un grand nombre de souches

du BDV existent dans le monde et que les techniques de diagnostic actuelles ne détectent que certaines d'entre elles [Staheli *et al.*, 2000].

Par ailleurs, l'interprétation de résultats diagnostiques est difficile car il n'y a pas de bonne corrélation entre le diagnostic sérologique, virologique et clinique. En effet, des anticorps dirigés contre le BDV peuvent être détectés chez un animal sans que l'ARN viral soit détecté (et inversement). D'après le Pr Herzog, la mise en évidence d'anticorps chez des chevaux présentant des troubles nerveux n'établit pas de façon certaine un diagnostic de maladie de Borna car des chevaux cliniquement sains peuvent être séropositifs [Herzog *et al.*, 1994]. Vahlenkamp *et al.* [2000] ont recherché l'ARN-p40 (par RT-PCR nichée) et les anticorps anti-N, à partir du sang de souris, rat (infectés expérimentalement), cheval et homme

(infectés naturellement). A la fois des anticorps et de l'ARN viral étaient détectés chez certains animaux, alors que l'un des deux marqueurs seulement était détecté chez d'autres. De plus, les animaux chez lesquels de l'ARN viral a été détecté ne présentaient pas systématiquement de signes cliniques. Plusieurs autres travaux, aussi bien chez l'homme [Kishi *et al.*, 1995 ; Sauder *et al.*, 1996 ; Nakaya *et al.*, 1996] que chez l'animal [Bahmani *et al.*, 1996 ; Nakamura *et al.*, 1995 ; Ogino *et al.*, 1998] ont également montré un manque de corrélation entre la détection d'ARN viral et d'anticorps, ce qui suggère la nécessité de méthodes à la fois sérologiques et moléculaires pour effectuer le diagnostic de l'infection. Le diagnostic reste donc une limite à la fois pour la détection d'une infection par le BDV et pour la connaissance de l'épidémiologie de la maladie : spectre d'hôtes, infection humaine, réservoir viral, transmission.

II - L'ÉPIDÉMIOLOGIE DE LA MALADIE DE BORNA REVISÉE

1. REPARTITION GEOGRAPHIQUE ET SPECTRE D'HOTES

Alors que pendant longtemps, des infections par le BDV ont été mises en évidence uniquement dans une région dite enzootique du sud de l'Allemagne, la répartition géographique des infections par le BDV est aujourd'hui mondiale (figure 1). Pourtant, pour des raisons que l'on ignore, la grande majorité des cas cliniques est toujours observée en Allemagne, et chez les chevaux et les moutons [Richt et Rott, 2001].

De même, la maladie de Borna a été décrite historiquement uniquement chez les chevaux et moutons. Toutefois, de nombreuses espèces animales à sang chaud (du poulet au singe) peuvent être infectées expérimentalement par le BDV [Nicolau et Galloway, 1928]. Par ailleurs, depuis quelques années des infections naturelles par le Bornavirus ont été mises en évidence chez de nombreuses espèces animales (figure 1).

2. MALADIE HUMAINE ?

Aucune étiologie infectieuse n'a encore été identifiée pour de nombreuses maladies psychiatriques humaines, telles que la schizophrénie, l'autisme, la démence, la dépression chronique... Le Bornavirus pourrait être à l'origine de maladies psychiatriques de

ce type. C'est pourquoi un grand nombre d'études portent depuis plus de 15 ans sur la détection de marqueurs d'infection par le BDV chez l'homme.

D'une part, des études sérologiques ont montré la présence d'anticorps spécifiques du Bornavirus dans des sérums de patients présentant des troubles psychiatriques ou nerveux ainsi que chez des personnes saines en Allemagne, au Japon et aux Etats Unis. Il semble que la séroprévalence soit supérieure chez les patients par rapport aux individus normaux [Schwemmle, 2001]. Toutefois, les résultats sérologiques sont très variables d'un laboratoire à l'autre et certaines équipes n'ont pas pu mettre en évidence la présence d'anticorps anti-BDV chez l'homme [Evengard *et al.*, 1999 ; Kitze *et al.*, 1996], principalement en raison de la faible affinité démontrée des anticorps humains pour les antigènes du BDV [Allmang *et al.*, 2001 ; Schwemmle, 2001 ; Billich *et al.*, 2002]. D'autre part, des protéines et de l'ARN du virus BDV ont été mis en évidence à la fois dans les leucocytes du sang circulant [Bode *et al.*, 1995] et dans du tissu cérébral humain [de la Torre *et al.*, 1996]. Une vingtaine d'études comparables basées sur la détection d'ARN viral dans le sang de patients psychiatriques ont été menées et les résultats étaient très divergents. Des études multicentriques réalisées en Allemagne ont également montré un taux de séropositivité

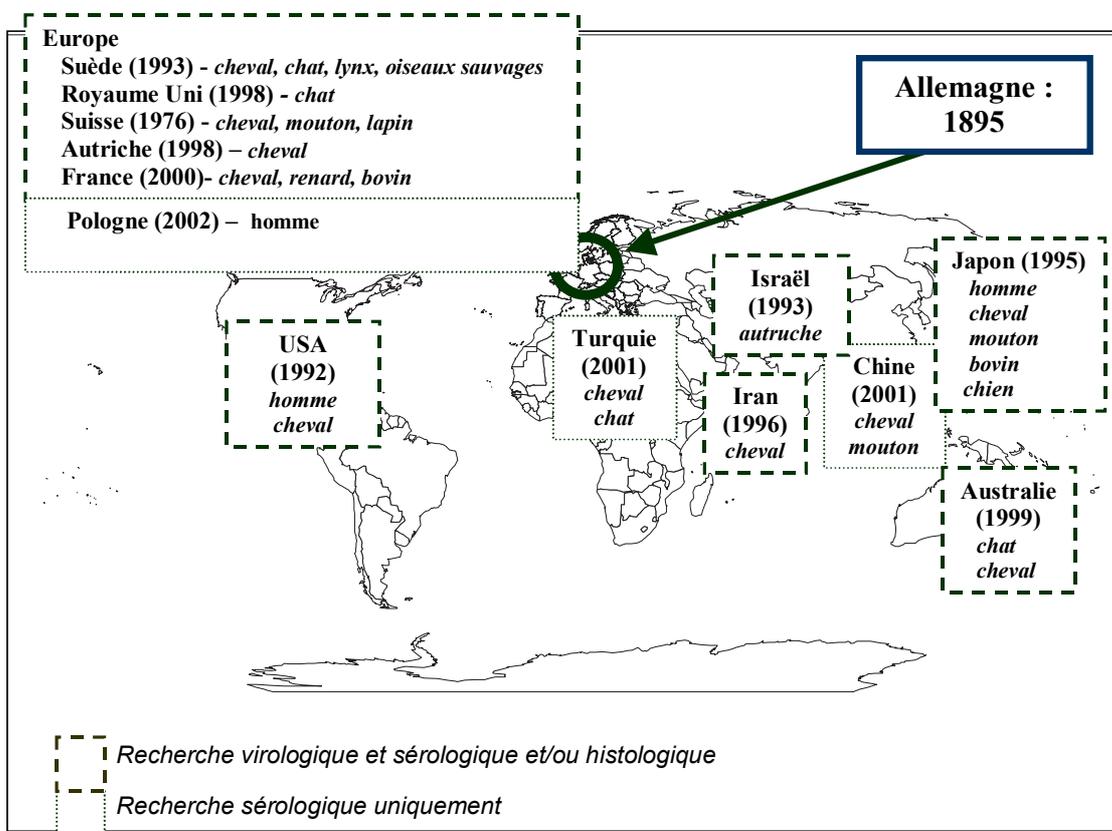
situé entre 0 et 30% pour les mêmes prélèvements de sang testés en aveugle par différents laboratoires [Nübling *et al.*, 1999]. Des doutes subsistent donc quant aux résultats de RT-PCR. Enfin, du virus infectieux a été isolé dans quelques travaux à partir de tissu cérébral humain [Nakamura *et al.*, 2000] et de culots leucocytaires totaux [Bode *et al.*, 1996 ; Planz *et al.*, 1999].

L'ensemble de ces observations est donc en faveur d'une possibilité d'infection humaine par le Bornavirus. La communauté scientifique reste cependant encore prudente sur cette éventuelle infection humaine et encore plus sur la possibilité de maladie psychiatrique humaine associée à une infection par le Bornavirus. Enfin, aucune transmission de l'animal à l'homme n'a encore été démontrée : le caractère zoonotique de la maladie reste donc lui aussi controversé.

Figure 1

Répartition mondiale des travaux décrivant des infections par le BDV dans le monde.

La première année de publication sur le BDV ainsi que les espèces infectées sont précisées pour chaque pays.



3. MODALITES DE TRANSMISSION DU BDV

Les connaissances sont encore limitées sur les modalités de transmission [Sierra-Honigmann *et al.*, 1993 ; Rubin *et al.*, 1995 ; Staeheli *et al.*, 2000]. Le virus est probablement excrété par les sécrétions salivaires, nasales et conjonctivales puisque de l'ARN du BDV a été détecté dans ces sécrétions. La contamination a lieu par voie olfactive, soit par contact direct avec ces sécrétions, soit par l'alimentation ou par l'eau contaminée [Richt *et al.*, 1993 ; Herzog *et al.*, 1994]. La présence d'ARN et de protéines du BDV dans les leucocytes

sanguins évoque une possibilité de transmission par voie hématogène. Toutefois, la transmission directe de cheval à cheval ou de mouton à mouton n'a jamais été montrée [Staeheli *et al.*, 2000]. Enfin, la possibilité de transmission verticale du BDV reste peu documentée, même si elle a été décrite chez les chevaux [Hagiwara *et al.*, 2000].

L'existence d'un éventuel réservoir ou vecteur viral est supposée pour deux raisons majeures. D'une part, l'infection naturelle des chevaux et des moutons a un caractère saisonnier [Dürwald et Ludwig, 1997 ; Richt *et al.*, 1997]. L'incidence accrue de la maladie

durant le printemps et au début de l'été pourrait être liée à une activité plus intense du cheval de sport à cette période de l'année ou au caractère saisonnier d'un éventuel vecteur ou réservoir. De plus, la situation sanitaire de l'élevage infecté semble être un facteur important dans la dissémination du virus. D'autre part, l'identité génétique entre les souches du BDV isolées à partir d'animaux d'espèces différentes (chevaux, moutons et autres animaux de ferme) évoque une source virale commune [Staheli *et al.*, 2000 ; Richt *et al.*, 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 encore été démontré : les deux seules études de séroprévalence de l'infection naturelle des rongeurs sauvages n'ont révélé aucun cas d'infection [Tsujiura *et al.*, 1999; Hagiwara *et al.*, 2001]. Les oiseaux et les insectes ont également été suspectés comme réservoirs potentiels du Bornavirus. Une seule étude [Berg *et al.*, 2001] a mis en évidence du génome du Bornavirus dans des fientes d'oiseaux sauvages.

On sait aujourd'hui que de nombreux animaux séropositifs, cliniquement sains ou avec des

infections subcliniques, constituent des sources potentielles d'infection [Richt *et al.*, 1997]. Dans ce cas, l'infection n'est pas systématiquement diagnostiquée, principalement à cause de son caractère souvent asymptomatique. Le tableau I reprend des résultats d'estimation des taux de séroprévalence dans divers pays. Il montre que le portage de l'infection est important dans les populations équinnes saines. De plus, les taux de séroprévalence sont très variables d'une étude à l'autre, entre 2 et 26,9%. Cette variation reflète probablement davantage une variabilité de la sensibilité et de la spécificité des techniques sérologiques employées qu'une réelle variabilité du taux de séroprévalence d'un pays à l'autre. Malgré un portage important chez les chevaux sains, l'incidence de la maladie de Borna, qui semblait être d'environ 0,3% en 1960 (en Allemagne) semble se trouver aujourd'hui seulement entre 0,02 et 0,04% [Richt *et al.*, 2000]. Les raisons d'une telle disparité entre la séroprévalence très élevée et la faible incidence de la maladie de Borna sont encore inconnues.

Tableau I

Récapitulatif des taux de séroprévalence déterminés dans des populations de chevaux cliniquement sains de divers pays

Auteur	Pays	Séroprévalence (%)	Technique
Bahmani <i>et al.</i> (1996)	Iran	18 [10-29] 13/72	WB
Berg <i>et al.</i> (1999)	Suède	24 [14-38] 13/53	ELISA
Galabru <i>et al.</i> (2000)	France	9 [5-14] 14/158	IFI, ELISA, WB
Hagiwara <i>et al.</i> (2001)	Chine	20 [6-44] 4/20	ELISA et WB
Herzog <i>et al.</i> (1994)	Allemagne	11	IFI
Inoue <i>et al.</i> (2002)	Japon	27 [19-35] 35/130	ECLIA
Kao <i>et al.</i> (1993)	USA	6 [4-9] 18/295	WB
Nakamura <i>et al.</i> (1995)	Japon	26 [16-40] 15/57	WB
Yilmaz <i>et al.</i> (2002)	Turquie	25 [21-31] 82/323	ELISA et WB
Weissenböck <i>et al.</i> (1998)	Autriche	2 [0-7] 2/100	IFI
Dauphin	France	10 [6-15] 15/155/	ELISA

III - CIRCULATION DU VIRUS DE LA MALADIE DE BORNA EN FRANCE

1. RECHERCHE VIROLOGIQUE

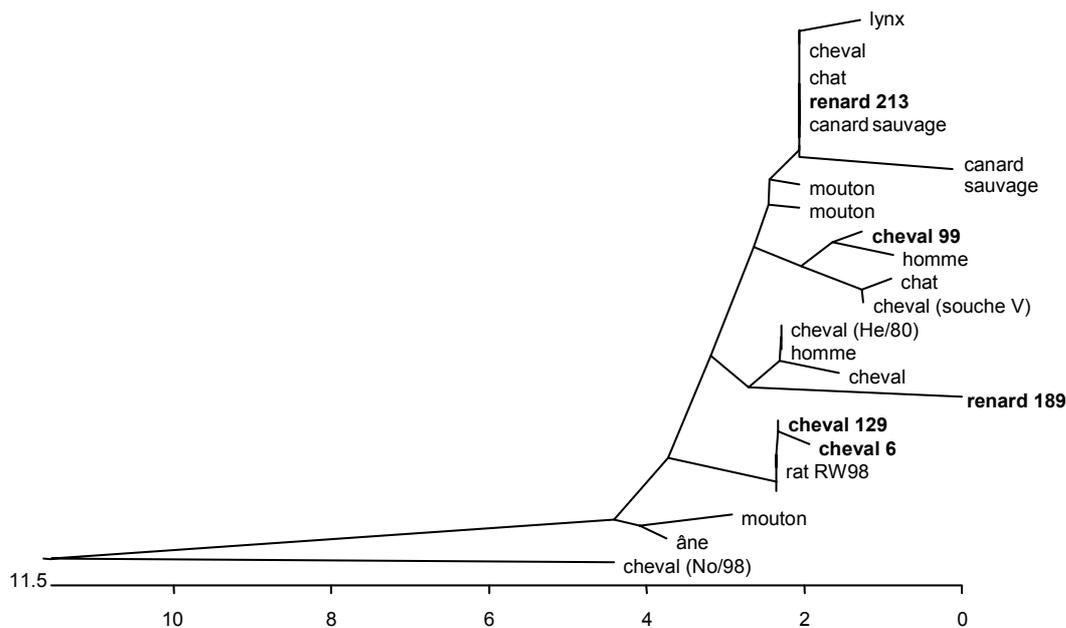
Un test de RT-PCR nichée permettant l'amplification des ARN génomiques et messagers des régions p24 et p40 a été développé au laboratoire de l'AFSSA Alfort. Cet outil moléculaire, appliqué à 206 prélèvements d'animaux présentant majoritairement des troubles nerveux, a permis de détecter de l'ARN viral dans des

encéphales de bovin (1/31), renard (6/61) et cheval (3/87), ainsi que dans 16/35 prélèvements sanguins de chevaux. Les séquences des produits PCR ont été comparées avec des séquences éditées dans Genbank (figure 2). Ce résultat a constitué la première mise en évidence de génome du BDV en France [Dauphin *et al.*, 2001].

Figure 2

Arbre phylogénétique basé sur les séquences nucléotidiques (1562-1826) du gène p24 et construit à l'aide du logiciel DNASTar à partir des séquences éditées dans GenBank et celles obtenues à l'AFSSA Alfort.

Les séquences obtenues au cours de notre étude sont indiquées en caractère gras. No/98 est le nouveau génotype. La seule souche de référence manipulée au laboratoire est la souche He/80.



2. RECHERCHE SEROLOGIQUE

Les techniques d'ELISA et Western blot basées sur l'antigène P (p24) ont été développées. La protéine recombinante P a été exprimée en systèmes eucaryote (cellules d'insecte) et procaryote (*E.coli*). Ces techniques ont été validées avec des sérums hyper-immuns de lapins, des sérums de rats infectés expérimentalement par le BDV ainsi que des sérums équins témoins. Aucune technique sérologique de référence, ni aucun

sérum de référence n'étant disponibles, nous avons eu recours à des sérums témoins issus de chevaux infectés naturellement ou expérimentalement. Ces 28 sérums provenaient en majorité des universités vétérinaires de Giessen et Leipzig (qui disposent d'une longue expérience dans le domaine du Bornavirus) et de la première étude sérologique française inter-laboratoires à laquelle l'AFSSA Alfort avait contribué [Galabru *et al.*, 2000]. Notre test ELISA a été appliqué à ces sérums témoins ainsi qu'à des

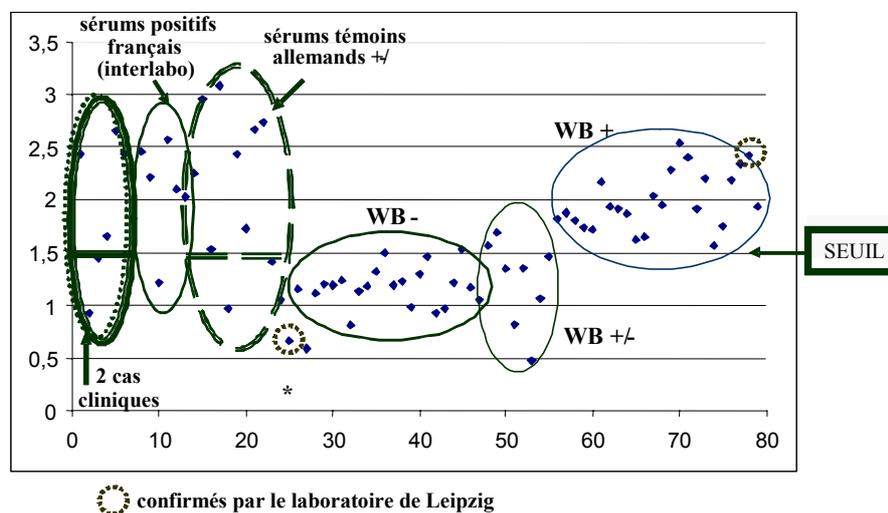
sérums de chevaux présentant des troubles nerveux et testés préalablement par Western blot (certains résultats sérologiques ayant été confirmés par l'université de Leipzig) (figure 3). Nous avons pu constater que la distribution des valeurs de DO obtenues avec l'ensemble des sérums testés distingue de manière satisfaisante les sérums positifs et négatifs. Ensuite, ce test ELISA a été appliqué à deux populations de chevaux vivant en France. Le

taux de séroprévalence a été estimé à 30% (35/119) chez des chevaux présentant des troubles nerveux et à 9% (15/155) chez les chevaux cliniquement sains. Le résultat obtenu pour la population de chevaux sains est tout à fait concordant avec celui obtenu lors de la première étude séro-épidémiologique menée en France en 1999 (14/158 c'est-à-dire 8,3%) [Galabru *et al.*, 2000].

Figure 3

Schéma récapitulatif des valeurs de DO obtenues par ELISA (basé sur l'antigène P exprimé en cellules d'insecte).

Les sérums pris en compte sont les sérums témoins obtenus de laboratoires allemands, les sérums testés positifs lors de l'étude de Galabru *et al.* [2000], les sérums de deux cas de maladie de Borna (poneys A et B) et des sérums testés préalablement par Western blot (basé sur le même antigène P).



3. MISE EN EVIDENCE DES PREMIERS CAS DE MALADIE DE BORNA EN FRANCE

La mise au point de ces outils diagnostiques a permis de mettre en évidence les premiers cas de maladie de Borna rapportés en France. Au préalable, nous avons choisi de considérer qu'un animal est infecté par le BDV lorsque deux critères parmi les trois critères suivants sont remplis : l'animal présente des troubles nerveux (locomoteurs et/ou comportementaux), la sérologie anti-P est positive et la RT-PCR nichée pratiquée à partir du tissu cérébral ou d'un culot leucocytaire - correspondant à 5 ml de sang au moins - est positive. Selon ces critères, une dizaine de cas de maladie de Borna ont été identifiés pour la première fois chez des chevaux en France.

L'exemple suivant décrit des cas de maladie de Borna chez deux poneys de club hippique situés dans le sud-ouest de la France. Ils ont présenté des troubles nerveux fin 1999. Un premier poney (poney A) a présenté en octobre 1999 des convulsions et des tremblements. Suite à cet épisode, il a présenté pendant quelques semaines, des tremblements de la tête et de l'encolure, une spasticité des postérieurs et de la queue, période pendant laquelle il est resté en décubitus la majorité du temps. Son état s'est progressivement amélioré après deux mois (mi-décembre 1999) et il présente toujours des postures anormales. Un autre poney (poney B) vivant dans la même écurie, a présenté le même tableau clinique un mois plus tard et avec une évolution comparable. Le tableau II présente les résultats du diagnostic de maladie de Borna, obtenus à la fois par l'AFSSA Alfort

et par l'équipe du Pr Müller de l'université vétérinaire de Leipzig. Sept autres poneys vivant dans la même écurie que les poneys A et B ont été soumis à des prélèvements par le vétérinaire praticien. Un seul de ces poneys a

présenté des tremblements et une ataxie très passagers quelques semaines après l'apparition des troubles nerveux chez les poneys A et B. Quatre d'entre eux ont fourni une réponse positive au test ELISA.

Tableau II

Résultats de RT-PCR nichée et de sérologie obtenus à partir de sérum et de sang sur EDTA des poneys A et B.

+/- : résultat douteux ; + : résultat positif ; - : résultat négatif ; NR : non réalisé ; Ag : antigène (détecté selon la technique décrite par Bode *et al.*, 2001) ; WB : Western blot ; IFI : Immunofluorescence indirecte ; IC : recherche de complexes immuns. Chiffres en caractère gras : résultat positif.

Date de prélèvement	Poney et n° de prélèvement	Résultats AFSSA Alfort				Résultats de l'université vétérinaire de Leipzig			
		PCR-p40	PCR-p24	WB-p24	ELISA-P DO	IFI titre	ELISA titre	Ag titre	IC titre
janv 2000	A	+	+	+	2,44	1:20	1:160	>1:16	>1:160
	B	-	+	+/-	1,45	-	-	1:32	>1/160
juin 2000	A	+	+	+	2,66	1:20	1:160	>1:64	>1/160
	B	-	+	+	1,66	-	1:40	1:64	>1/160
déc 2000	A	NR	NR	+	2,44	1:10	1:40	>1:16	>1/160
	B	NR	NR	+/-	0,93	-	1:40	>1:16	1:80

IV - CONCLUSION

Ces résultats préliminaires constituent des arguments virologiques, sérologiques et cliniques montrant une circulation du virus de la maladie de Borna en France. Toutefois, aucun élément ne permet de savoir si le BDV est un virus émergent sur notre territoire ou s'il est présent depuis longtemps en France. On peut supposer qu'il s'agit d'une émergence apparente, car ce virus n'avait encore jamais été recherché dans notre pays. Le niveau de séroprévalence, y compris chez les chevaux sains, apparaît élevé, de même que dans les autres pays ayant effectué le même type

d'études séro-épidémiologiques. L'incidence de la maladie reste inconnue en France mais elle est probablement faible (<0,5%), comme en Allemagne. Son estimation passe nécessairement par un recensement des cas cliniques de maladies nerveuses des chevaux en France. Le réseau de maladies nerveuses, initié en 2003 au sein du RESPE (Réseau d'Epidémiologie-surveillance des Pathologies Equines) va permettre de récolter des informations utiles sur l'incidence des principales maladies nerveuses équinées en France.

BIBLIOGRAPHIE

Allmang U., Hofer M., Herzog S., Bechter K., Staeheli P. - Low avidity of human serum antibodies for Borna disease virus antigens questions their diagnostic value. *Mol. Psychiatry*, 2001, **6**, 329-333.

Bahmani M.K., Nowrouzian I., Nakaya T., Nakamura Y., Hagiwara K., Takahashi H., Rad M.A., Ikuta K. - Varied prevalence of Borna disease virus infection in Arabic, thoroughbred and their cross-bred horses in Iran. *Virus Res.*, 1996, **45**, 1-13.

- Berg A.L., Dorries R., Berg M. - Borna disease virus infection in racing horses with behavioral and movement disorders. *Arch. Virol.*, 1999, **144**, 547-559.
- Berg M., Johansson M., Montell H., Berg A.L. - Wild birds as a possible natural reservoir of Borna disease virus. *Epidemiol. Infect.*, 2001, **127**, 173-178.
- Billich C., Sauder C., Frank R., Herzog S., Bechter K., Takahashi K., Peters H., Staeheli P., Schwemmle M. - High-avidity human serum antibodies recognizing linear epitopes of Borna disease virus proteins. *Biol. Psychiatry.*, 2002, **51**, 979-987.
- Bode L., Zimmermann W., Ferszt R., Steinbach F., Ludwig H. - Borna disease virus genome transcribed and expressed in psychiatric patients. *Nat. Med.*, 1995, **3**, 232-236.
- Bode L., Dürwald R., Rantam F.A., Ferszt R., Ludwig H. - First isolates of infectious human Borna disease virus from patients with mood disorders. *Mol. Psychiatry*, 1996, **1**, 200-212.
- Bode L., Reckwald P., Severus W.E., Stoyloff R., Ferszt R., Dietrich D.E., Ludwig H. - Borna disease virus-specific circulating immune complexes, antigenemia, and free antibodies--the key marker triplet determining infection and prevailing in severe mood disorders. *Mol. Psychiatry*, 2001, **6**, 481-491.
- Briese T., Schneemann A., Lewis A. J., Park Y. S., Kim S., Ludwig H. & Lipkin W. I. - Genomic organization of Borna Disease Virus. *Proc. Natl Acad. of Sci. USA*, 1994, **91**, 4362-4366.
- Cubitt B., 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.
- Dauphin G., Legay V., Sailleau C., Smondack S., Hammoumi S., and S.Zientara. - Evidence of Borna disease virus genome detection in French domestic animals and in foxes (*Vulpes vulpes*). *J. Gen. Virol.*, 2001, **82**, 2199-2204.
- De la Torre J.C., Gonzalez-Dunia D., Cubitt B., Mallory M., Mueller-Lantzsch N., Grasser F.A., Hansen L.A., Masliah E. - Detection of borna disease virus antigen and RNA in human autopsy brain samples from neuropsychiatric patients. *Virology*, 1996, **223**, 272-282.
- 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.
- Evengard B., Briese T., Lindh G., Lee S., Lipkin W.I. - Absence of evidence of Borna disease virus infection in Swedish patients with Chronic Fatigue Syndrome. *J. Neurovirol.* 1999, **5**, 495-499.
- Galabru J., Saron M.F., Berg M., Berg A. L., Herzog S., Labie J., Zientara S. - Borna Disease Virus antibodies in French Horses. *Vet. Rec.*, 2000, **147**, 721-722.
- Grabner A. and Fischer A. - Symptomatology and diagnosis of Borna encephalitis of horses. A case analysis of the last 13 years. *Tierarztl Prax.*, 1991, **19**, 68-73.
- Hagiwara K., Kamitani W., Takamura S., Taniyama H., Nakaya T., Tanaka H., Kirisawa R., Iwai H., Ikuta K. - Detection of Borna disease virus in a pregnant mare and her fetus. *Vet. Microbiol.*, 2000, **72**, 207-216.
- Hagiwara K., Asakawa M., Liao L., Jiang W., Yan S., Chai J., Oku Y., Ikuta K., Ito M. - Seroprevalence of Borna disease virus in domestic animals in Xinjiang, China. *Vet. Microbiol.* 2001, **80**, 383-389.
- Herzog S., Frese K., Richt, and Rott R. - Ein Beitrag zur Epizootiologie der Bornaschen Krankheit beim Pferd. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*, 1994, **81**, 374-379.
- Inoue Y, Yamaguchi K, Sawada T, Rivero J.C., Horii Y. - Demonstration of continuously seropositive population against borna disease virus in Misaki feral horses, a Japanese strain: a four-year follow-up study from 1998 to 2001. *J. Vet. Med. Sci.*, 2002, **64**, 445-448.
- 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.
- Kishi M., Nakaya T., Nakamura Y., Kakinuma M., Takahashi T.A., Sekiguchi S., Uchikawa M., Tadokoro K., Ikeda K., Ikuta K. Prevalence of Borna disease virus RNA in peripheral blood mononuclear cells from blood donors. *Med. Microbiol. Immunol. (Berl)*, 1995, **184**, 135-138.

- Kitze B., Herzog S., Rieckmann P., Poser S., Richt J. - No evidence of Borna disease virus-specific antibodies in multiple sclerosis patients in Germany. *J. Neurol.*, 1996, **243**, 660-662.
- Ludwig H., Bode L. - Borna disease virus: new aspects on infection, disease, diagnosis and epidemiology. *Rev. Sci. Tech.*, 2000, **1**, 259-288.
- Nakamura Y., Kishi M., Nakaya T., Asahi S., Tanaka H., Sentsui H., Ikeda K., Ikuta K. - Demonstration of Borna disease virus RNA in peripheral blood mononuclear cells from healthy horses in Japan. *Vaccine*, 1995, **13**, 1076-1079.
- Nakamura Y., Takahashi H., Shoya Y., Nakaya T., Watanabe M., Tomonaga K., Iwahashi K., Ameno K., Momiyama N., Taniyama H., Sata T., Kurata T., de la Torre JC., Ikuta K. - Isolation of Borna disease virus from human brain tissue. *J. Virol.*, 2000, **74**, 4601-4611.
- Nakaya T., Takahashi H., Nakamura Y., Asahi S., Tobiume M., Kuratsune H., Kitani T., Yamanishi K., Ikuta K. - Demonstration of Borna disease virus RNA in peripheral blood mononuclear cells derived from Japanese patients with chronic fatigue syndrome. *FEBS Lett.*, 1996, **378**, 145-149.
- Nicolau S. and Galloway IA. - Borna disease and enzootic encephalomyelitis of sheep and cattle. Medical Research Council Special Reports Series, Vol.121. His Majesty's Stationery Office, 1928, London, 183 pp.
- Nowotny N., Kolodziejek J., Jehle CO., Suchy A., Staeheli P., Schwemmler M. - Isolation and characterization of a new subtype of Borna disease virus. *J. Virol.*, 2000, **74**, 5655-8.
- Nübling CM., Löwer J., Kurth R. - Bornavirus study group. Ringversuche zu PCR-bzw serologischen Methoden für den Nachweis von Bornavirus. Bremen : Jahrestagung der Gesellschaft für virologie, 1999.
- Ogino M., Yoshimatsu K., Tsujimura K., Mizutani T., Arikawa J., Takashima I. - Evaluation of serological diagnosis of Borna disease virus infection using recombinant proteins in experimentally infected rats. *J. Vet. Med. Sci.*, 1998, **60**, 531-534.
- Planz O., Rentsch C., Batra A., Winkler T., Buttner M., Rziha HJ., Stitz L. - Pathogenesis of Borna disease virus: granulocyte fractions of psychiatric patients harbor infectious virus in the absence of antiviral antibodies. *J. Virol.*, 1999, **73**, 6251-6256.
- Richt JA., Herzog S., Haberzettl K., Rott R. - Demonstration of Borna disease virus-specific RNA in secretions of naturally infected horses by the polymerase chain reaction. *Med. Microbiol. Immunol.*, 1993, **182**, 293-304.
- Richt A. J., Pfeuffer I., Christ M., Frese K., Bechter K., Herzog S. - Borna Disease Virus infection in animals and humans. *Emerg. Infect. Dis.*, 1997, **3**, 343-352.
- Richt JA., Grabner A., Herzog S. - Borna disease in horses. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 2000, **16**, 579-595.
- Richt JA and Rott R. - Borna disease virus: a mystery as an emerging zoonotic pathogen. *Vet J.*, 2001, **161**, 24-40.
- Rubin SA., Sierra-Honigmann AM., Lederman HM., Waltrip RW. - 2nd, Eiden JJ., Carbone KM. Hematologic consequences of Borna disease virus infection of rat bone marrow and thymus stromal cells. *Blood*, 1995, **85**, 2762-2769.
- Sauder C., Muller A., Cubitt B., Mayer J., Steinmetz J., Trabert W., Ziegler B., Wanke K., Mueller-Lantzsch N., de la Torre JC., Grasser FA. - Detection of Borna disease virus (BDV) antibodies and BDV RNA in psychiatric patients: evidence for high sequence conservation of human blood-derived BDV RNA. *J. Virol.*, 1996, **70**, 7713-7724.
- Schwemmler M. - Borna disease virus infection in psychiatric patients: are we on the right track? *Lancet Infect. Dis.*, 2001, **1**, 46-52.
- Sierra-Honigmann AM., Rubin SA. - Estafanous MG., Yolken RH., Carbone KM. Borna disease virus in peripheral blood mononuclear and bone marrow cells of neonatally and chronically infected rats. *J. Neuroimmunol.*, 1993, **45**, 31-36.
- Staeheli P., Sauder C., Hausmann J., Ehrensperger F. & Schwemmler M. - Epidemiology of Borna disease virus. *J. Gen. Virol.*, 2000, **81**, 2123-2135.
- Tsujimura K., Mizutani T., Kariwa H., Yoshimatsu K., Ogino M., Morii Y., Inagaki H., Arikawa J., Takashima I. - A serosurvey of Borna disease virus infection in wild rats by a capture ELISA. *J. Vet. Med. Sci.*, 1999, **61**, 113-117.
- Vahlenkamp T., Enbergs H., 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, Suchy A, Caplazi P, Herzog S, Nowotny N. - Borna disease in Austrian horses. *Vet. Rec.*, 1998, **143**, 21-22.

Yilmaz H, Helps CR., Turan N., Uysal A., Harbour DA. - Detection of antibodies to Borna disease virus (BDV) in Turkish horse sera using recombinant p40. *Arch. Virol.*, 2002, **147**, 429-435.

