

# Importance de la maladie de Borna en France chez l'homme et chez l'animal

## *Importance of Borna disease in France both in man and animals*

Par Gwenaëlle DAUPHIN<sup>(1)</sup> et Stéphan ZIENTARA<sup>(1)</sup>  
(communication présentée le 2 décembre 2004)

### RÉSUMÉ

La maladie de Borna, méningo-encéphalomyélite qui affecte principalement les chevaux et moutons, est historiquement présente en Allemagne depuis 200 ans. Des études récentes ont mis en évidence des infections par le Bornavirus dans de nombreux pays et chez de nombreuses espèces animales, incluant probablement l'homme. Le caractère zoonotique de la maladie est toutefois encore controversé. L'ARN du Bornavirus a été détecté en France chez l'homme et chez diverses espèces animales (bovin, renard, cheval, sarcelle d'hiver, goéland). Des taux de séroprévalence ont été estimés à environ 10 % chez l'homme et chez les chevaux sains résidant en France. Enfin, des cas cliniques de maladie de Borna en France ont été rapportés chez des chevaux. Le Bornavirus circule donc dans les populations humaines et animales françaises, mais aucun élément ne permet de savoir s'il s'agit d'un virus émergent sur notre territoire ou s'il est présent depuis longtemps en France.

**Mots-clés :** Borna, virus, France, diagnostic, séroprévalence.

### SUMMARY

Historically present in Germany for the past two hundred years, Borna disease is a meningoencephalomyelitis which affects mainly horses and sheep. Recent studies have shown evidence of Bornavirus infections in numerous countries, in numerous animal species, and probably also in man. However, the zoonotic nature of the disease is still controversial. BVD RNA has been detected in France both in man and in various animal species (cattle, fox, horse, teal, seagull). Seroprevalence was estimated at around 10% in healthy humans and horses in France. Finally clinical cases of Borna disease have been reported in horses living in France. Therefore, Bornavirus circulates among human and animal populations in France, but it is not yet known whether the virus is emergent or if it has been present for a long time in France.

**Key words:** Borna, virus, France, diagnosis, seroprevalence.

(1) AFSSA Alfort (UMR1161 de virologie, AFSSA/INRA/ENVA), 22 rue Pierre Curie BP67, 94703 Maisons-Alfort cedex, g.dauphin@afssa.fr et s.zientara@afssa.fr

Depuis plus de 200 ans, la maladie de Borna est connue comme une méningo-encéphalite non purulente et souvent fatale des chevaux et moutons. Cette maladie était historiquement rapportée uniquement dans une zone enzootique située au sud de l'Allemagne. Depuis une dizaine d'années, des infections par l'agent responsable de cette maladie, le Borna Disease Virus (BDV) ou Bornavirus, ont été mises en évidence dans de nombreux pays, y compris en France. Par ailleurs, des infections ont été rapportées chez de nombreuses espèces animales à sang chaud, y compris probablement l'espèce humaine. Cette synthèse décrira brièvement les principales limites qui demeurent autour du Bornavirus, tant en terme de diagnostic que d'épidémiologie; puis le bilan des recherches de Bornavirus effectuées en France sera dressé.

### • LES DIFFICULTÉS DE DÉTECTION DU BORNAVIRUS

#### Les particularités du Bornavirus

L'agent étiologique de la maladie de Borna, nommé virus de la maladie de Borna, n'a été séquencé et caractérisé que tardivement, en 1994 (CUBITT et DE LA TORRE, 1994 ; BRIESE *et al.*, 1994). Etant enveloppé, à ARN négatif, simple brin et non segmenté, ce virus a été classé dans l'ordre des *Mononegavirales* et il est le seul représentant de la famille nouvellement créée des *Bornaviridae*.

Même si le BDV se réplique préférentiellement et de manière persistante dans les cellules du système nerveux central, il a également été mis en évidence par amplification génique dans le système nerveux périphérique, les cellules du sang, du thymus et de la moelle osseuse. Une propriété étonnante du BDV est sa capacité à infecter un large spectre d'hôtes (des oiseaux aux mammifères), de lignées cellulaires ou de cellules primaires en culture. De plus, contrairement à la majorité des virus à ARN, le génome du BDV semble présenter une extrême stabilité dans le temps (le premier isolat, la souche V date de 1929 et est proche génétiquement des isolats récents), d'une zone géographique à l'autre et surtout d'une espèce animale à l'autre (STAEHELI *et al.*, 2000). Cette stabilité génétique apparente (moins de 5 % de divergence nucléotidique entre les souches) rend difficile l'épidémiologie moléculaire de la maladie de Borna. Toutefois, cette stabilité a 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 15 % de divergence avec toutes les autres souches du BDV (NOWOTNY *et al.*, 2000). La découverte de ce nouveau génotype a ouvert des questions nouvelles concernant la détection du BDV chez les animaux et l'homme en dehors de la zone enzootique. STAEHELI *et al.* (2000) ont suggéré que la détection de l'ensemble des souches du Bornavirus, toutes extrêmement proches des souches de laboratoire dérivées des isolats d'Europe centrale, puisse être un simple artefact lié à la contamination accidentelle des prélèvements par les souches de laboratoire. Il est aussi possible d'imaginer qu'un grand nombre de souches du Bornavirus existent dans le monde et que les techniques de diagnostic actuelles ne détectent que certaines d'entre elles.

### Le diagnostic du Bornavirus

Le diagnostic du Bornavirus reste une problématique importante, principalement en raison des faibles niveaux de réplication et d'excrétion du virus. 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. Bien qu'une grande variété de techniques ait été développée, aucune standardisation n'est encore établie et de grandes divergences sont encore observées entre les résultats publiés par la communauté scientifique. De plus, aucun sérum de référence n'est actuellement disponible ni chez l'homme, ni chez l'animal.

Une infection par le Bornavirus peut être détectée par sérologie, isolement viral, immuno-histochimie, RT-PCR nichée, mais aucune méthode n'est suffisamment sensible et spécifique pour permettre à elle seule un diagnostic de certitude. Enfin, l'homogénéité apparente du génome du BDV a permis l'utilisation de réactifs « universels » (amorces pour la RT-PCR, anticorps et antigènes recombinants) pour la détection du BDV mais ces outils sont probablement inadaptés pour la détection d'éventuels nouveaux génotypes du BDV.

### • LA COMPLEXITÉ DE LA MALADIE DE BORNA

#### L'épidémiologie

##### Spectre d'hôtes

Même si les formes cliniques de l'infection par le BDV sont encore très majoritairement rapportées chez les chevaux et moutons, de nombreuses autres espèces animales à sang chaud peuvent être naturellement infectées. La maladie expérimentale est également possible chez la plupart de ces espèces, y compris chez les primates.

Des marqueurs spécifiques du BDV ont été détectés chez l'homme, en particulier chez les patients psychiatriques (STAEHELI *et al.*, 2000 ; RICHT et ROTT, 2001). D'une part, des anticorps spécifiques du Bornavirus ont été révélés chez des personnes saines, mais en proportion plus grande chez des patients présentant des troubles psychiatriques ou nerveux. Toutefois, de nombreux doutes subsistent quant aux résultats sérologiques humains car ils restent très variables d'un laboratoire à l'autre, principalement en raison de techniques sérologiques de sensibilité et de spécificité différentes. D'autre part, des protéines et de l'ARN du Bornavirus 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). Enfin, du virus infectieux a pu être isolé à partir de tissu cérébral humain et de culots leucocytaires totaux. L'ensemble de ces éléments tendent à montrer la possibilité d'infection humaine par le Bornavirus, qui pourrait être responsable de troubles psychiatriques tels que la schizophrénie, l'autisme, le syndrome de fatigue chronique et la dépression chronique. Cependant, le lien de causalité entre l'infection par le BDV chez l'homme et une maladie psychiatrique, ainsi que l'aspect zoonotique de la maladie de Borna restent encore controversés après plus de dix ans de recherches sur la question.

### Répartition géographique

La maladie de Bornavirus a été décrite pendant longtemps uniquement en Europe centrale, en particulier en Allemagne. Aujourd'hui la répartition géographique précise de la maladie est encore incertaine mais des infections ont été décrites dans de nombreux pays (figure 1). Il est toutefois à noter qu'aucun cas clinique de maladie de Bornavirus chez les chevaux et les moutons n'a encore été rapporté en dehors de la région enzootique d'Europe centrale, à l'exception d'un cas dans l'Est de l'Autriche (NOWOTNY *et al.*, 2000) et deux cas au Japon (TANIYAMA *et al.*, 2001). Dans le cas autrichien, le cheval était infecté par le nouveau génotype du BDV (souche No/98). La raison pour laquelle la maladie de Bornavirus reste aussi localisée malgré les échanges d'animaux est inconnue.

### Les signes cliniques

La maladie de Bornavirus se caractérise par des désordres neurologiques et comportementaux. Pendant la phase aiguë, les signes neurologiques sont variés : postures anormales, déficit proprioceptif, mouvements répétitifs, grincement de dents, hyperexcitabilité, agressivité, léthargie, etc. La maladie est le plus souvent fatale mais, pour des raisons encore inconnues, certains animaux survivent à la maladie aiguë et développent, quelques semaines après cette phase, une maladie chronique (KATZ *et al.*, 1998). Des épisodes récurrents peuvent ainsi apparaître tout au long de la vie de l'animal (en raison du caractère persistant du virus), tels que dépression, apathie, somnolence, comportement craintif (RICHT *et*

ROTT, 2001). Il est également probable que les infections asymptomatiques ou subcliniques soient fréquentes dans la population équine, avec occasionnellement des modifications légères du comportement et /ou des mouvements ataxiques (LUDWIG et BODE, 2000). Ces animaux peuvent ainsi constituer des sources potentielles d'infection pour d'autres animaux et éventuellement l'homme (RICHT *et al.*, 1997) (tableau 1). Les raisons de cette grande disparité entre un niveau élevé de séroprévalence et une faible incidence de la maladie de Bornavirus restent indéterminées.

### Les modes de transmission

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 l'eau contaminée. La transmission directe de chevaux à chevaux ou de moutons à moutons n'a jamais été montrée. La détection d'ARN et de protéines du BDV dans les leucocytes sanguins évoque une possibilité de transmission virale par voie hématogène ce qui soulève des questions importantes en terme de santé publique.

L'infection naturelle des chevaux et moutons est rare, d'apparition sporadique ou enzootique. L'incidence accrue de la maladie durant le printemps et l'été pourrait être liée au caractère saisonnier d'un éventuel vecteur. L'homologie génétique entre les souches virales isolées à partir d'animaux

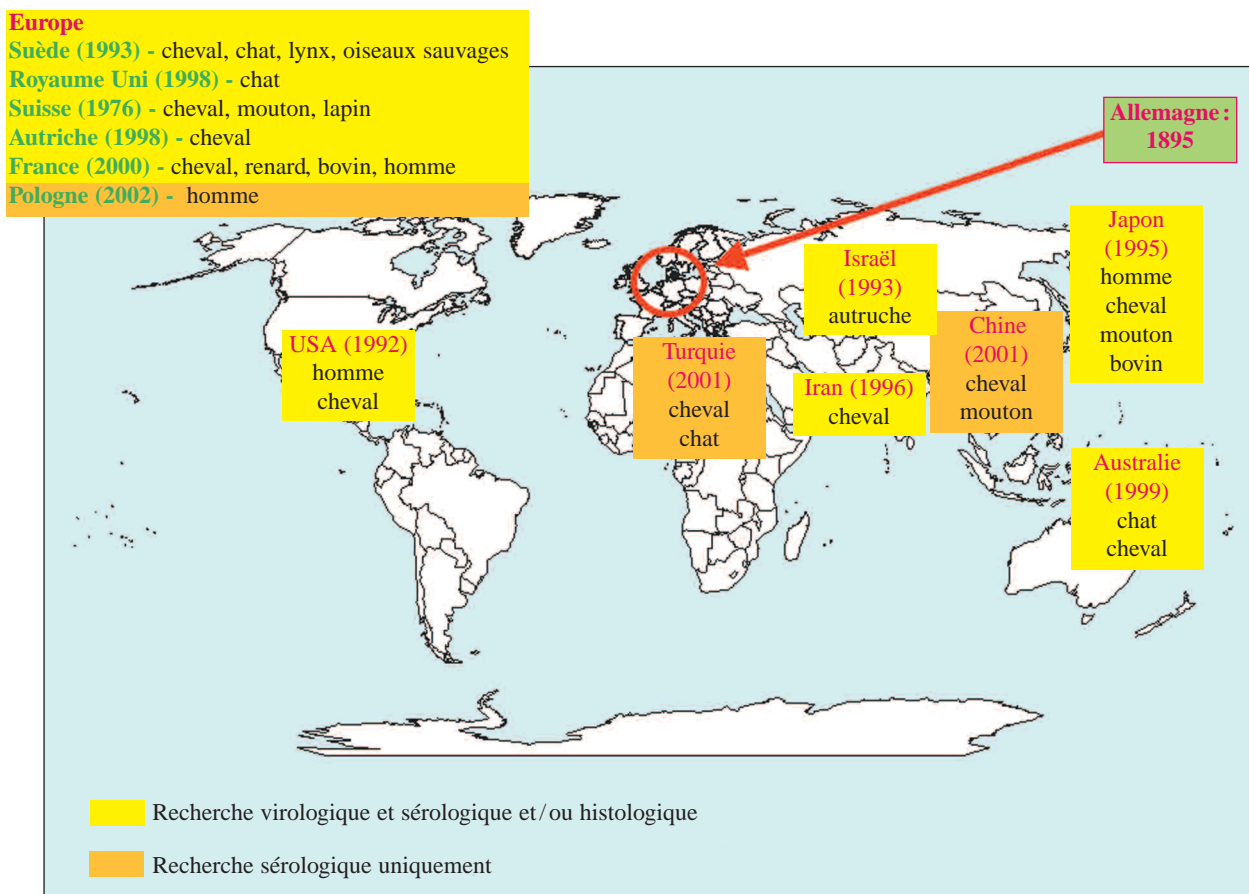


Figure 1 : Travaux ayant rapporté des infections par le BDV dans le monde (document G.Dauphin)

| Auteurs                          | 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          |

**Tableau 1 :** Récapitulatif des taux de séroprévalence estimés dans des populations de chevaux cliniquement sains de divers pays (document G.Dauphin). WB : Western blot - ELISA : Enzym Linked Immunosorbent Assay - ECLIA : ElectroChemiluminescence Assay - IFI : Immuno Fluorescence Indirecte

d'espèces différentes (chevaux, moutons et autres animaux de ferme) évoque également une source virale commune (STAEHELI *et al.*, 2000 ; RICHT et ROTT, 2001). Les rongeurs pourraient être 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.

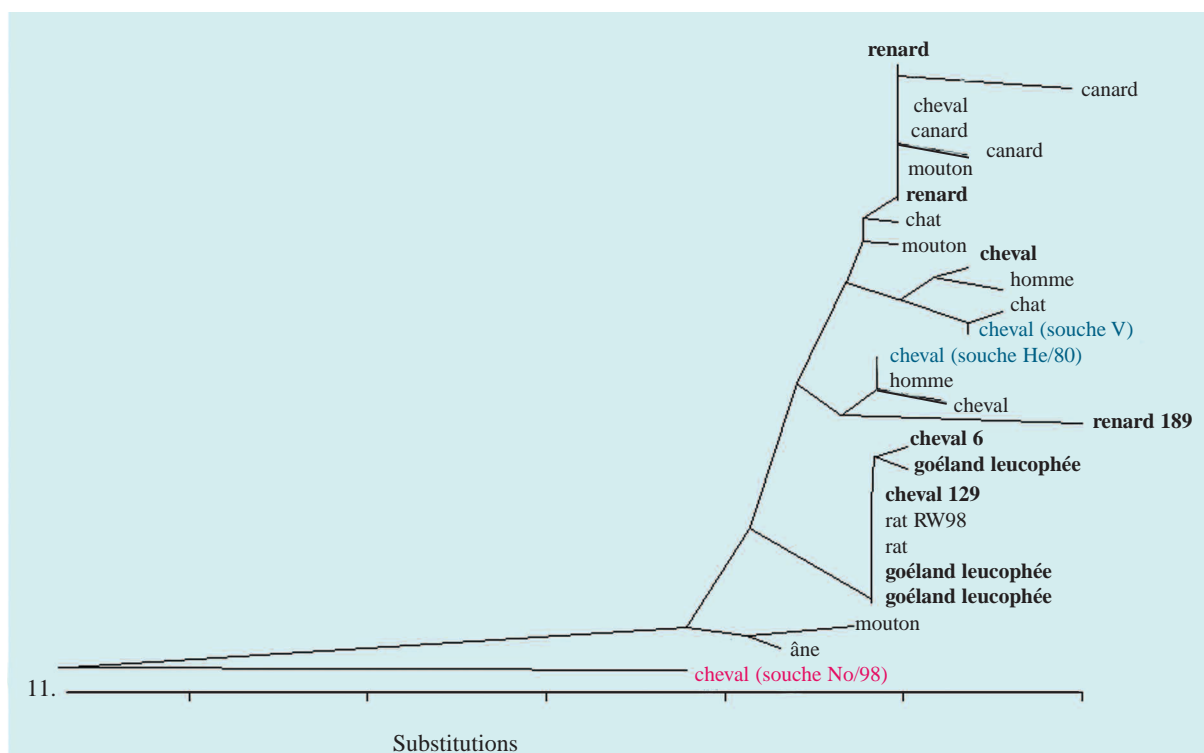
• LES PREUVES DE LA PRÉSENCE DU BORNAVIRUS EN FRANCE

Des infections par le BDV ont récemment été décrites pour la première fois en France chez l'animal et chez l'homme.

Présence d'ARN du Bornavirus chez l'homme et l'animal

Un test de RT-PCR nichée permettant l'amplification des ARN génomiques et messagers des régions p24 et p40

du BDV a été développé au laboratoire de l'AFSSA d'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 Bornavirus en France (DAUPHIN *et al.*, 2001). Par ailleurs, une récente étude effectuée à l'AFSSA d'Alfort sur 50 prélèvements d'oiseaux sauvages (fientes et encéphale de sarcelles d'hiver et goélands leucophée) a permis la détection d'ARN du Bornavirus dans quatre prélèvements (résultats non publiés). Une seule étude (BERG *et al.*, 2001) avait obtenu le même type de résultat et évoqué l'éventuelle implication des oiseaux sauvages dans le cycle épidémiologique.



**Figure 2 :** Arbre phylogénétique basé sur les séquences nucléotidiques (1562-1826) du gène p24 et construit (DNAsar) à partir des séquences éditées dans GenBank et des séquences obtenues à l'AFSSA d'Alfort (en gras). Le nouveau génotype No/98 est indiqué en rouge. Les deux souches de référence sont indiquées en bleu. (document G.Dauphin)

Deux travaux ont été publiés en France sur la détection d'ARN du Bornavirus à partir de prélèvements sanguins humains. Le premier a obtenu 7,4 % (12/162) de prélèvements positifs par RT-PCR nichée (COTTO *et al.*, 2003) chez des personnes immunodéprimées. Le deuxième (LEFRERE *et al.*, 2004) était basé sur la comparaison des résultats obtenus au sein d'une population saine, n'ayant jamais subi de transfusion et d'une population immunodéprimée ou ayant subi plusieurs transfusions. Les résultats - 0,9 % (3/327) de prélèvements positifs - comparables dans les deux populations ont suggéré que le risque de transmission du Bornavirus via la transfusion sanguine semble faible, ou est du moins maîtrisée grâce aux mesures de réduction leucocytaire du sang avant transfusion.

#### **Présence d'anticorps anti-BDV chez l'homme et l'animal**

Deux études séro-épidémiologiques menées dans la population équine française en 1999 (étude inter-laboratoire) et en 2003 ont révélé des taux de séroprévalence comparables, de 8,9 % (14/158) (GALABRU *et al.*, 2000) et 9,6 % (15/155) (DAUPHIN, 2003). La deuxième enquête s'est appuyée sur des techniques d'ELISA et Western blot, mises au point à l'AFSSA d'Alfort à partir de l'antigène viral P exprimé en cellules d'insecte. Une estimation du taux de séroprévalence a également été effectuée avec l'ELISA anti-P, mettant en évidence 30 % (35/119) de séropositivité chez des chevaux qui présentaient des troubles nerveux.

Chez l'homme, la seule étude sérologique réalisée en France a révélé, par immunofluorescence indirecte, des anticorps anti-BDV chez 12,6 % (11/87) des patients psychiatriques (souffrant de schizophrénie ou dépression) et chez 15,5 % (45/290) des personnes saines (LEBAIN *et al.*, 2002). Cette enquête menée au CHU de Caen n'a donc pas confirmé l'association entre Bornavirus et maladie psychiatrique.

#### **Cas cliniques équins de maladie de Borna**

Même si la littérature ne rapporte des cas cliniques de maladie de Borna que dans la zone enzootique (sauf trois exceptions), quelques cas cliniques de maladie de Borna en France ont été suspectés chez des chevaux (DAUPHIN, 2003). La concomitance de signes nerveux, d'une sérologie positive et de la détection d'ARN à partir de certains prélèvements de sang, ont permis d'évoquer la maladie de Borna chez dix-huit chevaux, dont quatorze étaient situés à la frontière allemande et un était de race allemande et issu d'Allemagne. Des sérologies positives ont été confirmées par le laboratoire de virologie de l'université vétérinaire de Leipzig (Pr Müller). L'ensemble de ces chevaux ayant survécu aux troubles cliniques, aucun diagnostic de certitude (du type immuno-histochimie ou isolement du virus à partir du tissu cérébral) n'a pu être effectué.

#### **• CONCLUSION**

L'ensemble des résultats obtenus chez l'homme et chez l'animal constituent des arguments virologiques, sérologiques et cliniques en faveur d'une circulation du virus de la maladie de Borna en France. Cependant l'incidence de cette maladie reste inconnue chez les chevaux et moutons en France, mais elle est probablement inférieure à 0,05 %, comme elle l'est en Allemagne (RICHT *et al.*, 2000). Le réseau de maladies nerveuses, récemment initié au sein du RESPE (Réseau d'Epidémiologie-surveillance des Pathologies Equines) pourrait permettre, à terme, d'estimer l'incidence des principales maladies nerveuses équines en France, y compris la maladie de Borna.

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. De manière générale, il est également difficile d'estimer aujourd'hui si le constat épidémiologique d'une prévalence plus importante du BDV est le reflet d'une plus large dissémination du BDV ou le résultat de l'amélioration des techniques diagnostiques ou encore la conséquence d'un intérêt croissant de la communauté scientifique pour cette maladie.

## BIBLIOGRAPHIE

- BERG M, JOHANSSON M, MONTELL H, BERG AL (2001) Wild birds as a possible natural reservoir of Borna disease virus. *Epidemiol. Infect.*, **127**, 173-178.
- BODE L, ZIMMERMANN W, FERSZT R, STEINBACH F, LUDWIG H (1995) Borna disease virus genome transcribed and expressed in psychiatric patients. *Nature Med.*, **1**, 232-236.
- BRIESE T, SCHNEEMANN A, LEWIS AJ, PARK YS, KIM S, LUDWIG H, LIPKIN WI (1994) Genomic organization of Borna Disease Virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 4362-4366.
- COTTO E, NEAU D, CRANSAC-NEAU M, AURIACOMBE M, PELLEGRIN JL, RAGNAUD JM, FILLET AM, BELNARD M, FLEURY H, LAFON ME (2003) Borna disease virus RNA in immunocompromised patients in southwestern France. *J. Clin. Microbiol.*, **41**, 5577-5581.
- CUBITT B., DE LA TORRE J.C (1994) Borna Disease Virus (BDV), a non-segmented RNA virus, replicates in the nuclei of infected cells where infectious BDV ribonucleoproteins are present. *J. Viro.*, **68**, 1371-1381.
- DAUPHIN G (2003) *Mise au point d'outils sérologiques et moléculaires pour le diagnostic et l'étude de la prévalence de la maladie de Borna en France*. Thèse de l'Université Lyon I, n° 65, 222p.
- DAUPHIN G, LEGAY V, SAILLEAU C, SMONDACK S, HAMMOUMI S, ZIENTARA S (2001) Evidence of Borna disease virus genome detection in French domestic animals and in foxes (*Vulpes vulpes*) *J. Gen. Virol.*, **82**, 2199-2204.
- DE LA TORRE JC, GONZALEZ-DUNIA D, CUBITT B, MALLORY M, MUELLER-LANTZSCH N, GRASSER FA, HANSEN LA, MASLIAH E (1996) Detection of borna disease virus antigen and RNA in human autopsy brain samples from neuropsychiatric patients. *Virology*, **223**, 272-282.
- GALABRU J., SARON M. F., BERG M., BERG A. L., HERZOG S., LABIE J., ZIENTARA S (2000) Borna Disease Virus antibodies in French Horses. *Vet. Rec.*, **147**, 721-722.
- KATZ JB, ALSTAD D, JENNY AL, CARBONE KM, RUBIN SA, WALTRIP RW (1998) Clinical, serologic, and histopathologic characterization of experimental Borna disease in ponies. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **10**, 338-343.
- LEBAIN P, VABRET A, FREYMUTH F, BRAZO P, CHABOT B, DOLLFUS S, HENRI (2002) Borna disease virus and psychiatric disorders. *Schizophr. Res.*, **57**, 303-305.
- LEFRERE JJ, MARIOTTI M, LAPERCHE S, BROSSARD Y, GIROT R, LEFRERE F (2004) Prevalence of Borna disease virus RNA in populations at high or low risk for blood-borne infections. *Transfusion*, **44**, 1396
- LUDWIG H, BODE L (2000) Borna disease virus: new aspects on infection, disease, diagnosis and epidemiology. *Rev. Sci. Tech.*, **1**, 259-288.
- NOWOTNY N., KOLODZIEJEK J., JEHL CO., SUCHY A., STAEHELI P., SCHWEMMLE M (2000) Isolation and characterization of a new subtype of Borna disease virus. *J. Virol.*, **74**, 5655-5658.
- RICHT, JA, PFEUFFER, I., CHRIST, M., FRESE, K., BECHTER, K., HERZOG S (1997) Borna Disease Virus infection in animals and humans. *Emerg. Infect. Dis.*, **3**, 343-352.
- RICHT JA, ROTT R (2001) Borna disease virus: a mystery as an emerging zoonotic pathogen. *Vet. J.*, **161**, 24-40.
- STAEHELI P., SAUDER C., HAUSMANN J., EHRENSPERGER F., SCHWEMMLE M (2000) Epidemiology of Borna disease virus. *J. Gen. Virol.*, **81**, 2123-2135.
- TANIYAMA H, OKAMOTO M, HIRAYAMA K, HAGIWARA K, KIRISAWA R, KAMITANI W, TSUNODA N, IKUTA K (2001) Equine Borna disease in Japan. *Vet. Rec.*, **148**, 480-482.