

Bornavirus

Stellungnahmen des Arbeitskreises Blut des Bundesministeriums für Gesundheit

Zusammenfassung und Bewertung

Im Jahr 2016 wurde bekannt, dass bei drei Empfängern von Spenderorganen desselben postmortalen Organspenders schwere Enzephalitiden auftraten. Zwei der transplantierten Patienten verstarben. Als Auslöser der transplantationsassoziierten Infektionen konnte erstmals das klassische Bornavirus (Borna disease virus 1, BoDV-1) identifiziert werden [1]. Weitere nicht-transplantationsassoziierte Einzelfälle wurden in Bayern nachgewiesen und zoonotische Übertragungen für diese Infektionen vermutet [2, 3].

Der natürliche Wirt von BoDV-1 ist die Feldspitzmaus (*Crocidura leucodon*), die das Virus mit Urin und Speichel aus-

scheidet. Gelegentlich kommt es zu Übertragungen von BoDV-1 auf andere Säugetiere, vor allem Pferde und Schafe, die Fehlwirte sind. Diese entwickeln dann die so genannte Bornasche Erkrankung. Alle jetzt identifizierten Patienten sowie der Organspender stammten aus einem bekannten Verbreitungsgebiet des BoDV-1. Es besteht Forschungsbedarf zur Ermittlung der zoonotischen Übertragungswege von Bornaviren auf den Menschen und zu den Infektionsverläufen.

Bereits 2015 wurde ein weiteres, bis dahin unbekanntes zoonotisches Bornavirus (Variegated Squirrel Bornavirus 1, VSBV-1) als Auslöser letal verlaufender Enzephalitiden bei einzelnen Haltern und Züchtern von exotischen Hörnchen bekannt [4]. VSBV-1 und BoDV-1 werden in die Spezies *Orthobornavirus* in der Familie der *Bornaviridae* eingruppiert und lassen sich molekulargenetisch differenzieren.

Bei akut Erkrankten und an der Infektion verstorbenen Menschen lassen sich BoDV-1- und VSBV-1-Infektionen mit den heute zur Verfügung stehenden Untersuchungsmethoden wie Antikörpernachweis, NAT und Sequenzierung sicher nachweisen. Nach derzeitigem Stand des Wissens werden Bornaviren von infizierten Fehlwirten nicht ausgeschieden und sind in deren Blut allenfalls in äußerst geringen Mengen nachweisbar. Auch bei den transplantationsassoziierten BoDV-1-Fällen konnte kein Virus im Blut nachgewiesen werden.

Die Prävalenz und Inzidenz von Bornavirusinfektionen in der Bevölkerung und in der Population der Blut- und Plasmaspender sind nicht bekannt. Ob und in welchem Umfang subakute oder inapparente Infektionen, insbesondere mit BoDV-1, beim Menschen auftre-

ten, ist unbekannt. Auch hier besteht Forschungsbedarf. Zur Ermittlung der epidemiologischen Datenlage ist die Etablierung von standardisierten und validierten Antikörper- und Antigentesten sowie von Nukleinsäurenachweissystemen notwendig. Nukleinsäure-Amplifikationstechnik (NAT)-Verfahren sollten hierbei ein breites Spektrum von Bornavirussequenzen erfassen. Retrospektive und prospektive Untersuchungen von Patienten mit einer potenziell durch Bornaviren ausgelösten Erkrankung wie Enzephalitis bzw. Meningoenzephalitis oder anderen neurologischen Krankheitsbildern können zur Ermittlung von Informationen über die Verbreitung von Infektionen und Erkrankungen durch Bornaviren beitragen.

Transfusionsassoziierte Infektionen sind bisher nicht bekannt geworden. Übertragungen durch Plasmaderivate sind aufgrund der Wirksamkeit der eingesetzten Inaktivierungs- und Eliminierungsverfahren gegenüber umhüllten Viren nicht anzunehmen. Aufgrund der Seltenheit der bisher identifizierten Infektionen und Erkrankungsfälle ist eine allgemeine Spendertestung nicht erforderlich und zurzeit auch noch nicht möglich.

1. Wissensstand über den Erreger

Seit mehr als 250 Jahren werden neurologische Symptome und Verhaltensstörungen bei Pferden und Schafen berichtet. Die Erkrankung wurde auch als hitzige Kopfkrankheit der Pferde bezeichnet. Derartige Enzephalitiden wurden im 19. Jahrhundert von der Schwäbischen Alb und später auch aus Bayern, Württemberg und Sachsen berichtet. Da sehr viele Tiere in der Umgebung der Stadt Borna (Sachsen)

Der Arbeitskreis Blut des Bundesministeriums für Gesundheit gibt als nationales Beratungsgremium Stellungnahmen zu neuartigen Erregern ab, bewertet neue Erkenntnisse zu bekannten Erregern und erarbeitet entsprechende Empfehlungen für die Fachöffentlichkeit. Diese Serie von Stellungnahmen zu einzelnen Erregern wird als Zusammenfassung des aktuellen Wissensstandes veröffentlicht, speziell unter transfusionsmedizinisch relevanten Aspekten. Sämtliche Stellungnahmen sind verfügbar unter www.rki.de.

Dieses Papier wurde fertiggestellt am 22.10.2018 und vom Arbeitskreis Blut am 22.11.2018 verabschiedet. Es wurde erarbeitet von den Mitgliedern der Untergruppe „Bewertung Blut-assoziiierter Krankheitserreger“ des Arbeitskreises Blut: Prof. Dr. Georg Pauli, Prof. Dr. Martin Aepfelbacher, Dr. Ursula Bauerfeind, Prof. Dr. Isabelle Bekereldjian-Ding, PD Dr. Johannes Blümel, Prof. Dr. Reinhard Burger, Dr. Manfred Doll, Prof. Dr. Markus Funk, Dr. Albrecht Gröner, Prof. Dr. Lutz Gürtler, Dr. Margarethe Heiden, Prof. Dr. Martin Hildebrandt, Prof. Dr. Dr. Bernd Jansen, Dr. Ruth Offergeld, Dr. Uwe Schlenkrich, Dr. Volkmar Schottstedt, Prof. Dr. Rainer Seitz, Dr. Johanna Strobel, unter besonderer Mitwirkung von Dr. Ralf Dürrwald, RKI.

Tab. 1 Taxonomie der Familie der *Bornaviridae* in der Ordnung *Mononegavirales* [17, 18, 22–25]

Genus	Spezies	Virus (Abk.)	Nachgewiesen bei
Carbovirus	Queensland carbovirus	Jungle carpet python virus (JCPV)	Pythonschlange (Australien)
	Southwest carbovirus	Southwest carpet python virus (SWCPV)	Pythonschlange (Australien)
Orthobornavirus	Mammalian 1 orthobornavirus	Borna disease virus 1 (BoDV-1)	Pferd, Neuweltkameliden, Schaf, Spitzmaus, Mensch (Endemiegebiete Mitteleuropas)
		Borna disease virus 2 (BoDV-2)	Pferd (Österreich)
	Mammalian 2 orthobornavirus	Variogated squirrel bornavirus 1 (VSBV-1)	Bunt-, Schönhörnchen, Mensch (in Assoziation mit Hobby- und Zootierhaltungen in Europa)
	Elapid 1 orthobornavirus	Loveridge's garter snake virus 1 (LGSV-1)	Schlange (Afrika)
	Passeriform 1 orthobornavirus	Canary bornavirus 1, 2 ^a (CnBV-1, -2)	Kanarienvogel (Hobbytierhaltung Deutschland und Österreich)
	Passeriform 2 orthobornavirus	Estrildid finch bornavirus 1 (EsBV-1)	Prachtfinken (Hobbytierhaltung Deutschland)
	Psittaciform 1 orthobornavirus	Parrot bornavirus 1, 2, 3, 4, 7 ^a (PaBV-1–4, -7)	Papageien (Hobby- und Zootierhaltung weltweit)
	Psittaciform 2 orthobornavirus	Parrot bornavirus 5 (PaBV-5)	Papageien (Hobby- und Zootierhaltung weltweit)
	Waterbird 1 orthobornavirus	Aquatic bird bornavirus 1, 2 ^a (ABBV-1, -2)	Wasservogel (Nordamerika, Europa)
Cultervirus ^b	Sharpbelly cultervirus	Wühàn sharpbelly bornavirus (WhSBV)	Beilbauch-Weißfisch (China)

^aDie aviären Spezies der *Orthobornaviren* werden auf Grund von phylogenetischen Analysen in Genotypen unterteilt. Die beiden Genera *Carbovirus* und *Orthobornavirus* unterscheiden sich in der Genomstruktur.

^bICTV Bornavirus study group proposal 2018

erkrankten, etablierte sich der Name Bornasche Krankheit (*Borna Disease*, BD) der Pferde und wurde später in die wissenschaftliche Nomenklatur übernommen [5].

Joest und Degen beschrieben bei erkrankten Pferden durch histologische Verfahren nachgewiesene intranukleär gelegene Einschlusskörperchen (Joest-Degen-Kerneinschlusskörperchen) in Ganglienzellen des Ammonshorns und schlugen diese Methode für die Differenzialdiagnose von neurologischen Erkrankungen bei Pferden vor [6, 7]. Bei Schafen mit einer der BD der Pferde vergleichbaren Symptomatik konnten ebenfalls charakteristische intranukleäre Einschlusskörper nachgewiesen werden. Der Nachweis dieser intranukleären Einschlusskörper diente über Jahrzehnte als einzige Methode zum sicheren Nachweis der BD. Zwick und Mitarbeitern gelang der Beweis, dass der Krankheitserreger der BD ein filtrierbares Agens (Virus) ist [8]. Sie zeigten auch, dass sich der Erreger experimentell durch intrazerebrale Inokulation auf verschiedene kleine Versuchstiere wie Kaninchen, Meerschwein-

chen und Ratten, aber auch auf Rhesusaffen übertragen ließ [9, 10].

Mitte der 1980er Jahre wurde eine Studie veröffentlicht, in der bei einem Teil der untersuchten Seren von Patienten mit psychiatrischen Störungen Antikörper gegen Bornavirus-Antigene nachgewiesen wurden [11]. In den folgenden Jahren wurde dann auch bei Patienten mit Depressionen, Schizophrenie, Multipler Sklerose und dem Chronischen Müdigkeitssyndrom über positive Antikörperteste gegen Bornavirus berichtet [12]. In vergleichenden Untersuchungen zur Häufigkeit von BoDV-1-Antikörpern konnten keine signifikant höheren Prävalenzen bei psychiatrischen Patienten im Vergleich zu Blutspendern oder Patienten mit chronischen Erkrankungen oder Infektionen gefunden werden [13, 14]. Der in mehreren Studien beschriebene Nachweis von Bornavirus-spezifischen Nukleinsäure-Amplifikaten in peripheren mononukleären Zellen des Blutes (PBMZ) konnte bisher nicht als Beleg für eine Bornavirusinfektion dienen, da die ermittelten Sequenzen sich nicht von den verwendeten Laborreferenzstämmen unterscheiden. Es wird ange-

nommen, dass Kreuzkontaminationen für diese Ergebnisse verantwortlich sind [15]. Aus den bisher vorliegenden Ergebnissen lässt sich kein Zusammenhang zwischen postulierten Bornavirusinfektionen und psychiatrischen Erkrankungen des Menschen belegen [12, 16]. Die Beteiligung von klassischen und neu entdeckten Bornaviren an Enzephalitiden des Menschen ist jedoch nachgewiesen [1, 2, 4].

Erkenntnisse zur Verbreitung von Bornavirusinfektionen haben seit dem Beginn des 21. Jahrhunderts sprunghaft zugenommen. Das „klassische“ Bornavirus (*Borna disease virus*, BDV) wurde bis zum Jahr 2008 als einziger Vertreter der Familie der *Bornaviridae* in die 1991 etablierte Ordnung der *Mononegavirales* eingeordnet [17, 18]. Der Nachweis weiterer *Bornaviren* bei Säugetieren, Vögeln, Reptilien und Fischen und deren molekulare Charakterisierung machten es notwendig, die neu beschriebenen Viren einzuordnen und die Taxonomie zu aktualisieren [17–20]. Eine Übersicht findet sich in [Tab. 1](#).

Von besonderem Interesse ist die Beschreibung von mehreren endogenen Bornavirus-ähnlichen (*endogenous Bor-*

navirus like, EBL) Elementen, die auf eine Integration von Bornavirussequenzen in das Genom von Vertebraten vor mehr als 60 Mio. Jahren zurückzuführen sind [21].

1.1 Erregereigenschaften

1.1.1 Virusstruktur und Virusvermehrung

Bornaviren replizieren als einziger Vertreter der *Mononegavirales* im Zellkern. Sie können in Zellkulturen verschiedener Säugetiere, bevorzugt in Zellen neuronalen Ursprungs, vermehrt werden, ohne einen zytopathogenen Effekt hervorzurufen [26]. Das Virus weist in Zellkulturzellen eine ausgeprägte Zellassoziation auf, und im Überstand sind nur sehr niedrige Titer an infektiösem Virus nachweisbar. Nachdem es gelungen war, größere Mengen an zellfreien Viren zu gewinnen [27], wurde das Genom 1994 charakterisiert [28, 29]. *Mononegavirales* haben eine Lipidhülle, die sich von zellulären Membranen ableitet. In die Lipidhülle sind die viralen Glykoproteine eingelagert, die für die Adsorption und die Aufnahme in die Zielzelle notwendig sind. Die Lipid-Hülle umschließt den helikalen Ribonukleinsäure-Komplex. Das Genom des Bornavirus ist nicht segmentiert und hat Negativstrang-Polarität. Das Genom mit einer Größe von 8,9 kb kodiert sechs Virusproteine, die von sechs offenen Leserahmen der Positivstrang-RNA (mRNA) translatiert werden: N (p38/40), P (p24), X (p10), M (p16), GP (p56) und L (p180). Das Nukleoprotein N bildet zusammen mit dem Phosphoprotein P, der Polymerase L und der viralen RNA den helikalen Ribonukleoprotein (RNP)-Komplex. Das Matrixprotein M ist am Assembly der Viruspartikel und deren Freisetzung beteiligt. Der Leserahmen des GP kodiert für ein Protein mit einem Molekulargewicht von 56 kDa, das posttranslational glykosyliert wird (gp84/gp94). Das GP-Vorläuferprotein wird durch die zelluläre Protease Furin in die beiden Untereinheiten gp43 und gp51 prozessiert. Die korrekte Prozessierung des Oberflächenglykoproteins GP ist für die Erkennung und Infektion der Zelle erforderlich. Zudem vermittelt GP den Neurotropismus und die Ausbreitung des Virus in Neuronen. Antikörper gegen GP neutralisieren Borna-

viren. Das X-Protein ist ein multifunktionales Nicht-Strukturprotein und an der Regulation der Virusreplikation beteiligt [12, 30].

Das Virus breitet sich im Wesentlichen über Zell-Zell-Kontakt aus, und prozessiertes GP ist für die Ausbreitung des Virus von Zelle zu Zelle notwendig [31]. Untersuchungen im Tiermodell weisen darauf hin, dass infektiöse RNP-Komplexe durch transneuronalen Transport entlang der Nervenbahnen wandern und keine intakten Viruspartikel nachweisbar sind [32].

Transkription und Replikation finden im Zellkern der infizierten Zelle statt. Die genomische RNA wird durch die virale RNA-abhängige RNA-Polymerase L in die Plusstrang-Kopie des viralen Genoms (Anti-Genom) transkribiert. Die Plusstrang-RNA dient als Matrize für die Synthese des viralen Genoms. Die Prozessierung der Plusstrang-RNA in die verschiedenen subgenomischen mRNAs erfolgt unter Verwendung der zellulären Splicing-Mechanismen [12, 26, 29, 33, 34].

1.1.2 Physikochemische Eigenschaften des Bornavirus (BoDV)

BoDV ist ein umhülltes Virus mit einer Größe von etwa 100 nm. Der Erreger wird durch Lipidlösungsmittel wie Äther und Chloroform sowie Hitzebehandlung (30 min, 56 °C) und niedrigen pH (pH 3) inaktiviert. Chlorhaltige Desinfektionsmittel und Formaldehyd sowie UV-Bestrahlung inaktivieren BoDV schnell. Bei Lagerung von Virus aus Zell- bzw. Organhomogenaten in Serum sinkt der Titer an infektiösem Virus unter die Nachweisgrenze in Abhängigkeit von der Lagerungstemperatur: bei 37 °C nach 72 h, bei 20 °C nach drei Wochen und bei 4 °C nach sechs Monaten. Bei -20 °C ist der Titer nach zwei Jahren um den Faktor 100 reduziert, während der Titer bei -70 °C unverändert bleibt [35]. Es bestehen Unterschiede in der Thermostabilität zwischen Virus aus Zellhomogenaten und zellfreiem Virus [36]. Der Titer von zellfreiem Virus sinkt bei einer Temperatur von 37 °C innerhalb von 120 h um etwa einen Faktor von 10², wohingegen der Titer des aus Zellhomogenaten gewonnenen Virus in diesem Zeitraum um einen Fak-

tor von 10⁴ reduziert wurde. Es kann postuliert werden, dass zellfreies BoDV, das von erkrankten oder persistent infizierten Tieren über Körperflüssigkeiten wie Urin oder Speichel ausgeschieden wird, über längere Zeit in der Umwelt infektiös vorliegen kann. In vakuumgetrocknetem Gehirnmateriale von erkrankten Kaninchen konnte infektiöses Virus noch nach 10 bis 17 Jahren nachgewiesen werden [37].

1.1.3 Pathogenese

Die Infektion adulter Säugetiere führt häufig zu einer Enzephalitis, die auf folgende Faktoren zurückgeführt wird:

- eine Induktion T-Zell-vermittelter Zytotoxizität gegenüber Neuronen, die Borna-Antigene exprimieren,
- eine mit der Aktivierung von Mikroglia assoziierte, durch Zytokine vermittelte Neurotoxizität und
- eine mit dem Verlust von Astrozyten verbundene Akkumulation von Glutamat, die zu einer Zerstörung von Neuronen führt [38].

Die Infektion kann auch mit einer Retinitis assoziiert sein [39–41].

Die Infektion neugeborener Säugetiere kann in Abhängigkeit vom genetischen Hintergrund zu einer persistierenden, tolerierten Infektion führen [42]. Während bei adult infizierten Säugetieren das Virus meist auf das Zentralnervensystem beschränkt bleibt, lässt sich Virus bei neonatal infizierten Tieren auch in Herz, Drüsen, Magen und Darm, aber nicht im Blut nachweisen [42]. Ungeachtet der tolerierten Infektion kommt es bei persistent infizierten Tieren jedoch zu neurologischen Störungen, die mit verminderten kognitiven Fähigkeiten und Verhaltensstörungen einhergehen können [38]. Zu bemerken ist, dass der Infektionsverlauf nach experimenteller Infektion bei Säugetieren Spezies-spezifische Unterschiede aufweist [43, 44]. Natürliche Infektionen werden bei Spitzmäusen und Hörnchen nachgewiesen, die die Infektion mit Bornavirus tolerieren und persistent Bornavirus ausscheiden. Bisher ist nicht geklärt, auf welchem Wege sich diese Tiere infizieren [45–47].

Bornasche Krankheit bei Pferden, anderen Einhufern, Schafen und Neuweltkameliden. Infektionen von Pferden, Schafen und anderen Spezies werden spo-

radisch beobachtet und diese Tiere werden als Fehlwirte angesehen. Die Bornasche Krankheit bei Pferden ist durch eine akute Enzephalitis charakterisiert, die sich nach einer Inkubationszeit von etwa vier Wochen bis zu über fünf Monaten entwickelt. Die Erkrankung beginnt mit unspezifischen Symptomen wie Apathie, Schläfrigkeit, Depression, Schreckhaftigkeit und Antriebslosigkeit gefolgt von Ataxie [48]. Verhaltensänderungen sind unter anderem Spreizen und Überkreuzen der Beine und Pressen des Kopfs gegen die Wand oder Krippe, langsames Kauen und „Pfeifenrauchen“. Es treten Lähmungen auf, die Tiere können erblinden, fallen ins Koma und sterben. Mehr als 80 % der erkrankten Tiere erliegen der Erkrankung ein bis vier Wochen nach Auftreten der klinischen Symptome [48, 49].

Die Ursache der klinischen Erkrankung ist nicht die Virusreplikation, die sowohl *in vitro* als auch *in vivo* ohne zytopathischen Effekt abläuft, sondern die virusinduzierten immunpathologischen Reaktionen der infizierten Tiere durch eine T-Zell vermittelte Immunantwort [50–53]. Histopathologische Untersuchungen des Gehirns zeigen eine nicht eitrige Meningoenzephalomyelitis mit unregelmäßig verteilten Entzündungsherden im Hippokampus, entlang der Nervenbahnen, im Mesenzephalon und Hippokampus. Perivaskuläre lymphozytäre Infiltrate, die aus T-Zellen und Makrophagen bestehen, findet man besonders in der Grauen Substanz [54–56].

Natürliche Infektionen bei Schafen verlaufen vergleichbar zu denen bei Pferden [57, 58], ebenso Infektionen bei Alpakas [59] und weiteren Zootieren [60, 61].

„Staggering disease“ bei Katzen. Es wird kontrovers diskutiert, ob die „*Feline staggering disease*“ ebenfalls durch Bornavirusinfektionen verursacht wird. Ohne Zweifel lassen sich Symptome dieser Erkrankung experimentell nach Infektion mit Bornaviren bei Katzen nachweisen. Wie bei Schaf und Pferd werden klinische Symptome wie Wesensänderungen, Fieber, Apathie und Appetitlosigkeit sowie Ataxie, Gangauffälligkeiten, Blindheit und Hinterbeinparalysen beobachtet [62–64]. Das natürliche Vorkommen der Infektion bei Katzen konnte jedoch bisher

nicht bestätigt werden, da alle Viren aus postulierten Infektionsnachweisen genetisch mit den in den jeweiligen Laboren verwendeten Virusstämmen weitgehend übereinstimmen. Außerdem konnte kein regional abgrenzbares Viruscluster nachgewiesen werden, welches die Infektion plausibel erklären würde [65, 66].

Infektionen von Versuchstieren. Lange Zeit war der Kaninchen-adaptierte Stamm V, der Ende der 1920er Jahre von Zwick und Mitarbeitern isoliert worden war, der einzige Stamm, der für experimentelle Untersuchungen zur Verfügung stand. Erst in den 1980er Jahren wurden weitere Isolate für experimentelle Untersuchungen eingesetzt.

In der überwiegenden Anzahl der experimentellen Übertragungen der Bornaschen Krankheit durch BDV auf Versuchstiere wurde die intrakranielle Infektion angewendet. Bei einer Vielzahl von Säugtieren induzierte dies ausgeprägte Krankheitssymptome, die in der Regel zum Tod der infizierten Tiere führte. Bei einigen Tieren wurde die Infektion aber auch toleriert und verlief weitgehend symptomlos. Der Verlauf der Infektion ist von verschiedenen Faktoren wie dem genetischen Hintergrund der Versuchstiere, dem verwendeten Virusstamm und dem Alter der Tiere zum Zeitpunkt der Infektion abhängig. In der Regel führt die neonatale Infektion von Versuchstieren insbesondere bei Ratten zu persistenten, tolerierten Infektionen, die mit Lerndefiziten, Verhaltensstörungen und Fettsucht sowie weiteren Symptomen assoziiert sein können. Die Infektion adulter Versuchstiere führt hingegen häufiger zu einer akuten Enzephalitis [67, 68].

Zwick und Mitarbeiter zeigten, dass bei der Übertragung des Virus vom Pferd auf Versuchstiere wie das Kaninchen eine Adaptation des Virus an den neuen Wirt stattfand, die sich vor allem durch die Verkürzung der Inkubationsdauer bemerkbar machte [8]. Molekulare Untersuchungen von Maus-adaptierten Viren wiesen darauf hin, dass Mutationen in viralen Proteinen wie in der RNA-abhängigen RNA-Polymerase an der Adaptation von Bornaviren an neue Spezies beteiligt sind [69, 70]. Inwieweit diese Prozesse bei der Übertragung von Bornaviren im natürli-

chen Infektionsgeschehen eine Rolle spielen, ist bisher nicht bekannt.

Sowohl bei natürlichen als auch experimentellen Untersuchungen wurde gezeigt, dass im Verlauf der Erkrankung eine Retinitis auftreten kann, die zur Erblindung der Tiere führt [40, 41, 71]. Die bei experimentell infizierten Tieren wie Kaninchen, Ratten und Rhesusaffen (*Macaca mulatta*) beobachtete ausgeprägte Retinopathie ist durch die Immunreaktion gegen Bornavirusantigene bedingt [39, 40, 71, 72]. Es wurde gezeigt, dass sich BDV nach intrazerebraler Infektion zentrifugal entlang des *Nervus opticus* in die Retina ausbreitet [40].

Uneinheitlich verlief die intrazerebrale Infektion von erwachsenen Spitzhörnchen (*Tupaia glis*; Gewöhnliches Spitzhörnchen). *Tupaia glis* entwickelten nach intrazerebraler Infektion eine persistierende Infektion, die nur in einigen Tieren zu klinischer Erkrankung und Verhaltensstörungen führte. Dies zeigte sich in ausgeprägten Veränderungen des Sozialverhaltens, Hyperaktivität oder neurologischen Symptomen. Infizierte Tiere entwickelten Bornavirus-spezifische Antikörper, und im Gehirn der Tiere konnte infektiöses Virus nachgewiesen werden [43].

1.2 Infektion und Infektionskrankheit

1.2.1 Infektionen des Menschen mit Bornaviren

Infektionen des Menschen mit BoDV-1 (*Mammalian 1 orthobornavirus*). 2016 wurde BoDV-1 als Auslöser schwerer Enzephalitiden bei Menschen identifiziert. Drei Fälle wurden infolge einer Transplantation berichtet [1]. Die Organe (Nieren und Leber) stammten von einem Organspender, der aus einer Region stammte, die als Endemiegebiet für BoDV-1 bekannt ist. Der Organspender hatte keine Anzeichen einer neurologischen oder infektiösen Erkrankung. Eine Untersuchung seines Serums zeigte niedrigtitrige BoDV-1-Antikörper. Die Empfänger der Nieren verstarben. Der Empfänger der Leber überlebte mit Folgeschäden [1]. In sequenziellen Serumproben, die für einige der Transplantier-

ten zur Verfügung standen, konnten eine Serokonversion und hohe Antikörpertiter im Serum und in der Zerebrospinalflüssigkeit (CSF) nachgewiesen werden [1, Supplementary].

Außerdem wurde bei einer tödlich verlaufenden Enzephalitis eines 25-jährigen Patienten aus Mittelfranken BoDV-1 nachgewiesen. Mittelfranken liegt ebenfalls in einem Endemiegebiet der Bornaschen Krankheit. Bei Auftreten der Krankheitssymptome lag der Antikörpertiter unter der Nachweisgrenze und stieg innerhalb weniger Tage zu hohen Titern an [2, Supplementary]. Während in der CSF virales Genom (~1100 Kopien/ml) nachgewiesen werden konnte, lag die Viruslast im Serum an der Nachweisgrenze [2].

Die in diesen Untersuchungen nachgewiesenen BoDV-1-Sequenzen zeigten eine enge Verwandtschaft zu den in der entsprechenden Region zirkulierenden BoDV-1 von BD-erkrankten Pferden und von Feldspitzmäusen, die als Reservoir angesehen werden. Es ist bekannt, dass die Genomsequenzen von BoDV-1 in den verschiedenen Endemiegebieten lokalen Mustern folgen, so dass sich Genomsequenzen jeweils bestimmten BoDV-1-Regionen zuordnen lassen [73].

Ungeklärt bleiben die Infektionsquelle und der Übertragungsweg von BoDV-1 auf den Organspender sowie auf die anderen, nicht transplantationsassoziierten Fälle. Alle Infizierten lebten in Regionen, in denen BoDV-1 endemisch ist, so dass nicht ausgeschlossen werden kann, dass z. B. ein direkter oder indirekter Kontakt zu persistent infizierten Feldspitzmäusen bestand [1, 2, 16]. Für andere Virusinfektionen des Menschen wie LCMV, Rabiesvirus oder Hantavirus konnte gezeigt werden, dass der direkte Kontakt zu persistent infizierten Tieren, Bisswunden, virushaltiger Urin oder kontaminierte Stäube Infektionsquellen darstellen [74, 75].

Infektionen des Menschen mit Variegated Squirrel Bornavirus 1, VSBV-1 (*Mammalian 2 orthobornavirus*). Bereits vor den BoDV-1-Infektionen wurden akute Infektionen des Menschen durch ein Bornavirus erstmals bei drei Züchtern von Bunthörnchen und einer Tierpflegerin von Schönhörnchen berichtet [4, 76,

77]. Phylogenetische Untersuchungen grenzten diesen Erreger, der als Variegated Squirrel Bornavirus 1 (VSBV-1) bezeichnet wurde, von den klassischen Bornavirusen (BoDV) ab. Zwei der drei Bunthörnchenzüchter erkrankten ebenso wie die Tierpflegerin an einer Enzephalitis und der dritte Züchter an einer Meningoenzephalitis. Die Verläufe waren progredient und die Patienten verstarben zwei bis vier Monate nach Auftreten der ersten klinischen Symptome [4, 76].

In Serum und CSF wurden mit dem Immunfluoreszenztest (IFT) und im Enzyme linked Immunosorbent Assay (ELISA) hohe Antikörpertiter nachgewiesen. Bei der Tierpflegerin konnten *post mortem* hohe Konzentrationen von VSBV-1-spezifischen Amplifikaten mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) im Liquor und in einigen Hirnregionen (Lateral-Ventrikel [Plexus 1 und 2], Striatum, *Substantia nigra*, *Cerebellum*) detektiert werden. Proben aus der Gehirnrinde und aus peripheren Organen (Lunge, Niere, Leber, Milz, Pankreas, Knochenmark, Darmgewebe) waren in der PCR negativ.

Von den verstorbenen Bunthörnchenzüchtern stand nur eine begrenzte Anzahl von Proben zur Verfügung, die alle in der PCR hoch positiv waren (Patient 1 und 2 Gehirnproben, Patient 3 Gehirnprobe, Liquor und Serum). Bei den akut an BoDV-1 oder VSBV-1 Erkrankten wurden hohe Antikörpertiter gegen Virusantigene nachgewiesen [4, 76].

Bei persistent mit VSBV-1 infizierten Tieren wurden hohe Viruskonzentrationen in verschiedenen Organen, Körperausscheidungen wie Speichel, Urin und Kot, aber auch auf der Haut der infizierten Tiere nachgewiesen, jedoch nur geringe Mengen viraler RNA im Blut. Es wird diskutiert, dass die Übertragung des Erregers auf den Menschen durch Kratz- oder Bisswunden erfolgte. Jedoch infizierten sich nicht alle Bunthörnchenzüchter, die Kontakt zu persistent infizierten Tieren hatten, so dass im Zusammenhang mit der komplexen Epidemiologie der Bornaschen Krankheit durchaus noch unbekannte Übertragungsmechanismen in Betracht gezogen werden müssen.

Ist BoDV-1 an der Entstehung von psychiatrischen Erkrankungen des Men-

schens beteiligt? Auf Grund serologischer Untersuchungen [11] wurde Anfang der 1980er Jahre die Hypothese aufgestellt, dass sich Menschen mit Bornavirus infizieren können. Diese These war nicht neu und bereits in der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts angesichts der neurologischen Symptome bei Bornavirus-infizierten Tieren diskutiert worden [78, 79]. Der seit den 1980er Jahren in der Wissenschaft verfolgte Fokus lag aufgrund der Untersuchungen von Rott et al. [11] jedoch weniger auf Enzephalitiden als auf psychiatrischen Erkrankungen. Diese Befunde initiierten in vielen Ländern eine Vielzahl von Studien, die die Seroprävalenz von Patienten in der Psychiatrie oder bei Personen mit Symptomen wie Depressionen, bipolare Störungen, Schizophrenie und Chronisches Müdigkeitssyndrom ermitteln sollten. In der Regel berichteten die Untersucher eine höhere Prävalenz bei Personen mit psychiatrischen und/oder neurologischen Erkrankungen im Vergleich zu Gesunden [16, 80]. In Seroprävalenzstudien wurden verschiedene Antikörperrnachweissysteme wie IFT, ELISA, Western Blot oder der Nachweis zirkulierender Immunkomplexe eingesetzt. Die Bewertung von reaktiven Untersuchungsproben erfolgte dabei anhand der von den einzelnen Arbeitsgruppen aufgestellten Kriterien. Vergleicht man die Ergebnisse der verschiedenen Arbeitsgruppen, so ist auffällig, dass eine große Schwankungsbreite reaktiver Seren besteht, sowohl in den Kontrollgruppen als auch bei Patienten mit unterschiedlichen neurologischen Symptomen. Als Ursachen für die Diskrepanz der von den unterschiedlichen Arbeitsgruppen berichteten Ergebnisse werden zum einen die unterschiedlichen, nicht allgemein anerkannten Nachweisverfahren und die Auswahl der Patienten angesehen. Der Nachweis von BoDV-1-Genomsequenzen in PBMC bei den verschiedenen Patientengruppen und bei gesunden Kontrollpersonen wird kritisch diskutiert, da alle bisher veröffentlichten Sequenzen aus Proben von Patienten mit psychiatrischen Symptomen oder von putativen Virusisolaten, z. B. aus Deutschland, Japan und Frankreich, eine hohe Sequenzhomologie zu den jeweils verwendeten Laborreferenzstämmen aufweisen [15, 66, 81].

Es wird daher angenommen, dass Kreuzkontaminationen, insbesondere bei der Verwendung von hochsensitiven nested-RT-PCR-Verfahren, für die Ergebnisse verantwortlich sind [15, 16, 82].

Bisher liegen somit keine schlüssigen, allgemein anerkannten Beweise vor, die einen Zusammenhang zwischen den von den Autoren beschriebenen neurologischen oder psychiatrischen Erkrankungen des Menschen und der Infektion mit BoDV-1 belegen [16, 82].

Bisher kann nicht ausgeschlossen werden, dass in den verwendeten Nachweisverfahren Antikörper erfasst werden, die durch eine unspezifische Aktivierung des Immunsystems hervorgerufen werden, insbesondere bei Personen mit chronischen Infektionen und lange anhaltenden Belastungen des Immunsystems.

1.2.2 Infektionen von Tieren mit BoDV-1/-2 (*Mammalian 1 orthobornavirus*)

Der Infektionsweg für die natürliche Bornavirusinfektion bei Pferden, Schafen und anderen Säugetieren ist nicht bekannt. Es wird vermutet, dass die Infektion intranasal erfolgt [49] und das Virus als RNP-Komplex über die Nervenendigungen des Riechepithels und den *Nervus olfactorius* ins Gehirn gelangt [32]. Experimentell konnten Ratten intrazerebral, aber auch intranasal, intraokulär und intraperitoneal infiziert werden. BoDV-1 weist in experimentell und natürlich infizierten Tieren einen starken Neurotropismus auf. Beobachtet werden neurologische Symptome, die sich klinisch in mehr oder weniger stark ausgeprägten Verhaltensänderungen wie Apathie, Schläfrigkeit, Stereotypie, Aggression und Erregung äußern. Paralysen, insbesondere der Extremitäten, treten bei schwer erkrankten Tieren auf. Im Gehirn infizierter Tiere findet man vorwiegend in der Grauen Substanz, im Hippocampus und im Gehirnstamm entzündliche perivaskuläre Infiltrate [83]. Im weiteren Verlauf der Infektion breitet sich das Virus im gesamten zentralen Nervensystem aus; später findet sich Virus dann auch im peripheren Nervensystem. In Kaninchen, die intrazerebral infiziert wurden, breitet sich BoDV-1 zentrifugal über den *Nervus opticus* aus und infiziert neuronale Zellen in der Retina, die durch T-

Zell vermittelte immunpathologische Prozesse zerstört werden [40]. Vergleichbare immunpathologische Prozesse werden auch bei der Retinopathie, die bei Pferden und experimentell infizierten Ratten und Rhesus-Affen diagnostiziert wird, verantwortlich gemacht [40, 41].

1.2.3 Infektionen von Vögeln mit Viren des Genus *Orthobornavirus*

Im Jahr 2008 veröffentlichten zwei Forschergruppen unabhängig voneinander den Nachweis von aviären Bornaviren bei Papageien, die an der neuropathischen Drüsenmagendilatation (*proventricular dilatation disease*) erkrankt waren [19, 20]. Die Drüsenmagendilatation ist eine progressive und tödlich verlaufende Erkrankung von Psittaciden. Im Vergleich zum Neurotropismus des Virus bei der natürlichen Infektion des Pferdes und des Schafes zeigt das aviäre Bornavirus einen breiteren Gewebetropismus, der sowohl den Befall von neuronalen als auch nicht-neuronalen Strukturen umfasst [84]. Im Vergleich zu den Bornaviren der Säugetiere weisen aviäre Bornaviren eine hohe genetische Variabilität auf und werden daher in Genotypen unterteilt [85].

Hinweise auf vertikale Übertragungen von aviären Bornaviren ergaben Analysen von embryonalen Entenfibroblasten, in denen mit der RT-PCR Sequenzen von aviären Bornaviren nachgewiesen wurden und Übertragungen von aviärem Bornavirus über Eier von experimentell infizierten Sonnensittichen [85, 86].

Die Isolierung von aviären Bornaviren gelang auf verschiedenen Hühner- und Wachtelzelllinien sowie auf Entenfibroblastenzellen [84, 87]. Versuche, aviäre Bornaviren auf Säugetierzellen zu isolieren, gelangen nicht oder nur partiell [84].

Aufgrund der weiten Verbreitung genotypisch unterschiedlicher aviärer Bornaviren in verschiedenen Vogelarten wird diskutiert, dass Vögel Reservoire oder Überträger von Bornaviren auf Säugetiere darstellen könnten [85]. Diese Vermutung beruht einerseits auf älteren Veröffentlichungen, in denen gezeigt wurde, dass sich Hühner mit Gehirnsuspensionen BoDV-1-erkrankter Kaninchen infizieren lassen [88–90]. Andererseits wurde der Nachweis von BoDV im Kot von Stockenten und Dohlen in Schweden be-

richtet [91]. Die Sequenzanalyse von PCR-Amplifikaten ergab dabei eine hohe Übereinstimmung mit Sequenzen von BoDV-1 der Säugetiere; eine Kreuzkontamination kann in diesen Fällen nicht ausgeschlossen werden [66]. Dass dieser molekulare Nachweis von Bornaviren auf das Vorliegen von Bornavirusvarianten hinweist, die zwischen Säugetieren und Vögeln übertragen werden können, wird jedoch aufgrund der Biologie der aviären Bornaviren eher als unwahrscheinlich betrachtet [92].

Endogene Bornavirussequenzen. Im Genom einer Vielzahl von Vertebraten wie Menschen und anderen Primaten, Elefanten, Ratten und Mäusen sowie Schlangen wurden endogene Bornavirussequenzen nachgewiesen, die sich von verschiedenen Genen des BoDV-1 ableiten lassen (*endogenous bornavirus-like* [EBL] Elemente). Dies war überraschend, da zuvor angenommen wurde, dass unter den RNA-Viren nur Retroviren ihr RNA-Genom in doppelsträngige DNA transkribieren und in das Wirtsgenom integrieren [21, 93–95]. EBL-Sequenzen, die sich vom N-Gen ableiten (EBLN), findet man in einer Vielzahl von Vertebraten-Spezies [85]. Im humanen Genom wurden bisher sieben EBLN-Loci (hsEBLN 1–7) identifiziert. EBLN-1 weist eine etwa 58 % Homologie zum N-Gen des BoDV-1 auf und kodiert mit einem offenen Leserahmen für ein potenziell 366 Aminosäuren langes Protein und erreicht damit fast die Größe des N-Proteins mit 370 Aminosäuren [21]. Man geht davon aus, dass mRNA des BoDV-1 in doppelsträngige DNA revers transkribiert und letztendlich in das Genom der Keimbahn integriert wurde. Untersuchungen einer Vielzahl von Spezies, in denen EBLN-Sequenzen nachgewiesen wurden, legen nahe, dass die Integration in das Genom etwa vor 40–60 Mio. Jahren erfolgte, da eine orthologe Lokalisation in den Genomsequenzen verschiedener Säugetierspezies gefunden wurde, was auf eine Koevolution von Säugetieren und ihren EBLN-Sequenzen hinweist [94–96]. Die Rolle der EBL-Elemente in Zellen oder Geweben ist bisher nicht geklärt. Untersuchungen zur Expression von EBL-mRNA und der davon translatierten Proteine lieferten Hinweise auf speziesspezifische und zellspezifische

Unterschiede, was darauf hindeutet, dass EBLN-1 regulatorische Eigenschaften haben könnte [96–100].

Bisher liegen keine Informationen darüber vor, inwieweit serologische Verfahren mit exprimiertem EBLN-Protein reagieren oder entsprechende Antigene unter bestimmten Bedingungen Antikörper induzieren. Des Weiteren ist nicht untersucht, ob einzelne PCR-Verfahren genomische EBLN-Sequenzen oder auch davon transkribierte mRNA amplifizieren und damit falsch-positive Ergebnisse liefern [63].

1.3 Epidemiologie

Durch phylogenetische Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die Sequenzcluster für BoDV-1 sich auf bestimmte Gebiete erstrecken und hier über Jahre und Jahrzehnte stabil sind. Solche Sequenzgruppen wurden für Regionen in Baden-Württemberg, Bayern, Sachsen, Thüringen und Niedersachsen in Deutschland und für das Rheintal in der Schweiz, dem Fürstentum Liechtenstein und Österreich identifiziert (Cluster 1a, 1b, 2, 3). Die Stamm V-Gruppe (Cluster 4) sticht aus diesen Gruppen hervor, weil sie über ein weites Territorium verteilt ist, von Niedersachsen und angrenzenden Bundesländern über Thüringen bis hin nach Niederösterreich [66, 73, 101].

BoDV-2 wurde bisher nur in der Steiermark (Österreich) identifiziert und scheint phylogenetisch älter zu sein [25, 102]. Die Bestimmung dieser Sequenzcluster bot Anlass, bisher etablierte Daten zum weit verbreiteten Vorkommen von Bornavirusinfektionen bei Menschen und Tieren zu überprüfen. Es stellte sich dabei heraus, dass alle Sequenzen von Proben, die außerhalb der Endemiegebiete gewonnen worden waren, auf Laborstämme zurückzuführen sind [81, 103].

Bornaviren der Wasservogel lassen sich entsprechend ihrer Herkunft aus Nordamerika oder Europa gruppieren [92].

Erkrankungen durch Bornaviren bei Pferden und Schafen wurden in Deutschland, der Schweiz, dem Fürstentum Liechtenstein und Österreich beschrieben. Einzelfälle von Infektionen wurden bei Nutztieren wie Rindern, Ziegen und Eseln, bei Haustieren wie Hunden und

Katzen sowie bei einigen Zootieren berichtet [63, 66, 104].

Die Epidemiologie der Bornavirusinfektion bei Pferd, Schaf und weiteren Säugetieren sowie die regionale Verteilung der Krankheitsfälle ließen vermuten, dass ein natürliches Reservoir für BoDV-1 existiert [66]. Ein Durchbruch bei der Suche nach einem Reservoir war der Nachweis von BoDV-1 in Feldspitzmäusen (*Crocidura leucodon*) in einem Endemiegebiet für die Bornasche Krankheit in der Schweiz [105]. Bei anderen Spitzmausspezies und Nagern in diesen Regionen konnte kein BoDV-1 nachgewiesen werden [106, 107]. Molekulare Analysen der BoDV-1-Genome der BoDV-1-positiven Wildfänge von Feldspitzmäusen und der Vergleich mit Sequenzen von erkrankten Pferden in den entsprechenden Endemiegebieten ergab eine weitgehende Übereinstimmung der Genomsequenzen [45, 106, 107]. Der Lebensraum der Feldspitzmaus stimmt mit der regionalen Verbreitung der Bornaschen Krankheit in den Endemiegebieten überein [108]. Feldspitzmäuse können persistent infiziert sein ohne klinisch zu erkranken, obwohl große Virusmengen in verschiedenen Organen nachweisbar sind. Die Isolierung infektiöser Viren und der Nachweis viraler RNA in Speichel, Urin, Hautabstrichen, Tränenflüssigkeit und Kot über einen Zeitraum von mehreren Monaten zeigten, dass BoDV-1 von persistent infizierten Feldspitzmäusen fortlaufend ausgeschieden wird und auch in den Lagerstätten der Tiere nachweisbar war [45]. Der Übertragungsweg der Bornaviren von Spitzmäusen auf Pferde und andere empfängliche Spezies ist bisher unbekannt. Feldspitzmäuse bevorzugen waldfreie, extensiv genutzte Habitate und suchen jahreszeitlich und populationsdynamisch unterschiedlich menschliche Siedlungen auf, wo sie auch überwintern. In Gehöften und Stallungen kann es dabei zu einer Akkumulation von kontaminierten Ausscheidungen und abgeschilferten Keratinozyten kommen. Inwieweit kontaminierte Futtermittel oder Aerosole bei der Übertragung der Infektion eine Rolle spielen, ist nicht bekannt. Spitzmäuse werden häufig von Katzen gefangen und von diesen in Gärten und Wohnungen gebracht, aber von Katzen

nicht gefressen. Inwieweit dies eine Rolle bei der Übertragung von BoDV-1 auf Menschen spielen kann, ist nicht untersucht. Die sporadischen Infektionen bei Feldspitzmäusen, einigen Hörnchenarten und *Spill-over*-Wirten sprechen für komplexere Übertragungsvorgänge und lassen eine Beteiligung weiterer Virusreservoirs offen [108–110].

Horizontale Übertragungen zwischen Pferden und anderen Fehl-Wirten scheinen keine Bedeutung für die Epidemiologie der Infektion zu haben. Für vertikale Übertragungen bei Pferden oder Schafen gibt es bisher keinen Nachweis [111]. Aufgrund der zahlreichen Daten aus Tiermodellen (Ratte) ist anzunehmen, dass für die Etablierung persistenter Infektionen die Infektion neugeborener Spitzmäuse und Hörnchen wie beim Lymphozytären Choriomeningitis-Virus (LCMV) eine Rolle spielen könnte [112].

Sowohl bei den erkrankten Transplantierten als auch bei den Patienten, die unabhängig von einer Transplantation infolge einer BoDV-1- bzw. VSBV-1-Infektion Symptome entwickelten, konnten im Verlauf der Infektion Serokonversionen mit hohen Antikörperanstiegen gemessen werden [1, 2, 4, 76]. Ebenso wurden bei den persistent infizierten Spitzmäusen und Hörnchen hohe Antikörpertiter nachgewiesen [4, 107].

Durch das Fehlen von validierten serologischen Testverfahren zur Erkennung von Infektionen in der Inkubationsphase oder von abgelaufenen Infektionen ist die epidemiologische Bewertung zur Verbreitung von BoDV-1 erschwert. Die weltweit beschriebenen anti-BoDV-1-Seroprävalenzen, die für Menschen und viele Säugetierarten etabliert wurden, beruhen auf Daten mit niedrigen Antikörpertitern und möglicherweise kreuzreaktiven Epitopen.

Infektionen bei Bunthörnchen und Schönhörnchen mit dem *Mammalian 2 orthobornavirus* VSBV-1. In Studien zur Verbreitung von VSBV-1 in Hörnchen in Deutschland, in den Niederlanden, Kroatien und im Vereinigten Königreich wurden etwa 800 Proben von 20 Hörnchenspezies aus fünf verschiedenen Subfamilien untersucht [46, 47]. Keines der untersuchten Tiere wies klinische Symptome auf. Eine Infektion mit VSBV-1 konnte

bei 3,5 % der untersuchten Tiere nachgewiesen werden, wobei die Mehrzahl der Hörnchen zu zwei Subfamilien gehörten, den *Sciuridae* bzw. *Callosciurinae*. Unter den Bunthörnchen (*Sciurus variegatoides*) waren 1,5 % und den Schönhörnchen (Prevost-Hörnchen, *Callosciurus prevostii*) 8 % VSBV-1-positiv. Kein Virus konnte in Eichhörnchen ($n=261$) nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, wie auch bei Feldspitzmäusen gezeigt, dass die Tiere persistent infiziert sind und sich das Virus im ganzen Körper ausbreitet.

Da Virus in Proben von Speicheldrüsen und Abstrichen der Nase, der Augen und der Mundhöhle, aber auch in der Harnblase, den Nieren, den Sexualorganen, im Kot und auf der Haut der infizierten Tiere nachgewiesen wurde, besteht ein erhebliches Risiko der Übertragung des Erregers beim Umgang mit infizierten Tieren, insbesondere bei einigen Arten der *Sciuridae* bzw. *Callosciurinae* [46, 47].

Meldepflicht und gesetzliche Vorgaben.

Es gibt keine spezifische Meldepflicht für Bornavirusinfektionen. Jedoch handelt es sich bei diesen Infektionen um bedrohliche übertragbare Krankheiten, die auf Grund ihrer klinisch schweren Verlaufsformen oder ihrer Ausbreitungsweise eine schwerwiegende Gefahr für die Allgemeinheit darstellen können. Daher wurde vom Robert Koch-Institut auf eine Meldung gemäß §6 Abs. 1 Nr. 5 Infektionsschutzgesetz (IfSG) (Arzt-Meldepflicht) hingewiesen und bei Nachweisen von Bornaviren gemäß §7.2 IfSG (Labor-Meldepflicht). Die auf diesem Weg möglichen Meldungen von Bornavirusinfektionen unterbleiben in der Praxis jedoch häufig. Zur präziseren Abschätzung der Krankheitslast in der Humanbevölkerung wäre eine spezifische Meldepflicht für BoDV-1 sinnvoll.

Seit 2011 besteht in Deutschland keine Meldepflicht mehr für Erkrankungen von Tieren mit Bornavirus. Unter dem Aspekt einer Gefährdung des Menschen wäre die Wiederaufnahme der Meldepflicht für Tiere sinnvoll, da erkrankte Pferde als Endwirte Indikator für die lokal gebundenen Virusreservoir sind und diese Daten die Aktualisierung von Verbreitungskarten der Bornaschen Krank-

heit und die Definition von Risikogebieten ermöglichen würden.

Eine Einstufung als Spender- bzw. Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten durch die ZKBS erfolgte bisher für das VSBV-1. Nach §5 Absatz 1 GenTSV i.V.m. den Kriterien im Anhang I GenTSV wird VSBV-1 als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten der Risikogruppe 3 zugeordnet (Az. 45242.0138).

Eine Zuordnung von Bornaviren im Rahmen der Biostoffverordnung ist bisher nicht abgeschlossen. In den „Technischen Regeln für Biologische Arbeitsstoffe“ (TRBA 462 „Einstufung von Viren in Risikogruppen“ (03.07.2018)) wird Bornavirus der Risikogruppe 2 zugeordnet, ohne auf eine weitere Differenzierung der verschiedenen Virusspezies einzugehen (https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRBA/pdf/TRBA-462.pdf?__blob=publicationFile). Die TRBA 260 „Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen in der Veterinärmedizin und bei vergleichbaren Tätigkeiten“ (14.12.2017) differenziert den Umgang mit VSBV-1 und ordnet den Erreger vorläufig in die Risikogruppe 3 ein.

1.4 Nachweismethoden und Aussagekraft

Zum Nachweis von Infektionen mit BoDV existieren eine Reihe unterschiedlicher Testverfahren. Ein allseits akzeptierter Goldstandard konnte bisher allerdings nicht definiert werden. Insbesondere die *intra vitam*-Diagnose gilt weiterhin als problematisch.

Die Diagnose einer Erkrankung eines Tieres mit BoDV-1 wurde nach der Beschreibung der Bornaschen Krankheit in der Regel durch histologische Untersuchungen und den Nachweis der Joest-Degen-Einschlusskörper geführt, ehe dann serologische Verfahren entwickelt wurden wie die Komplementbindungsreaktion oder der IFT zum Nachweis von Bornavirus-spezifischen Antigenen [113, 114]. Nachdem persistent infizierte Zellkulturen zur Verfügung standen, konnten Seren oder CSF auf Antikörper gegen Bornavirus-spezifische Antigene unter-

sucht werden [115–117]. Die Sequenzierung des Genoms ermöglichte die Entwicklung molekularer Nachweisverfahren (PCR) [28, 29, 118].

Histologischer Nachweis/Histopathologischer Nachweis/Immunhistologischer Nachweis.

Der histologische Nachweis der Joest-Degen-Einschlusskörper in *post mortem*-Proben von erkrankten Tieren (Pferd, Schaf) wird heute weitgehend durch immunhistologische Nachweismethoden ersetzt, die auch für die Diagnostik bei Menschen eingesetzt werden können. Zum Nachweis von virusspezifischen Antigenen in Geweben wie Gehirnschnitten werden Antisera gegen Bornavirus und bevorzugt monoklonale Antikörper gegen N und P eingesetzt. Die Bindung der Antikörper an die Antigene und deren Lokalisation können dann über die indirekte Immunfluoreszenz bzw. immunhistochemisch nachgewiesen werden. Der *post mortem*-Nachweis der Einschlusskörper oder der BoDV-Antigene in Geweben gilt als gesicherter Nachweis einer BoDV-Infektion. Der Nachweis von viralen Nukleinsäuren in Geweben kann mit Hilfe der *in-situ*-Hybridisierung mit Bornavirus-spezifischen Sonden durchgeführt werden.

Nachweis von Antikörpern gegen Bornavirusantigene.

Für den Nachweis von Bornavirus-spezifischen Antikörpern sind bisher im Wesentlichen nur *in-house*-Testverfahren etabliert. Der IFT ist ein häufig verwendetes Verfahren und gilt als verlässliches Nachweissystem. Die Lokalisation der Antigene im Zellkern der infizierten Zellen wird als ein wesentliches Kriterium für die Spezifität des Antikörpernachweises angesehen. Hohe Antikörpertiter gegen Bornavirusantigene beim Menschen wurden bisher jedoch nur bei Erkrankten mit BoDV-1 und VSBV-1 nachgewiesen. Die untere Nachweisgrenze der Bornavirus-spezifischen Antikörper wird in der Regel durch das jeweilige Untersuchungslabor festgelegt.

Häufig sind in Proben von Pferden mit Verdacht auf eine Bornavirusinfektion die Antikörpertiter niedrig und weisen eine niedrige Avidität auf [41, 104]. Dies erschwert eine klare Aussage zum Nachweis einer BDV-Infektion. Die Reaktivität von

Seren von Kontrollpersonen und psychiatrischen Patienten in serologischen Testen wird kritisch diskutiert, da in der Regel die Antikörpertiter und die Affinität der Antikörper niedrig sind. Für diese Fälle fehlen allgemein anerkannte Kriterien zum serologischen Nachweis und zur Bestätigung einer Bornavirusinfektion.

Für seroepidemiologische Studien wurden verschiedene Antikörperrachweissysteme basierend auf der ELISA-Technik entwickelt. Eingesetzt wurden Lysate infizierter Zellen oder gentechnisch exprimierte Proteine wie N, P oder M, die auf Mikrotiterplatten gekoppelt waren [119]. Weitere Systeme wie der Antikörper-Capture-ELISA, Kompetitive ELISA und Reverse-type-Sandwich-ELISA wurden von verschiedenen Untersuchern verwendet. Auch für diese serologischen Verfahren fehlen allgemein akzeptierte Kriterien, die eine Infektion mit Bornavirus belegen.

Als ein weiteres serologisches Nachweisverfahren einer Bornavirusinfektion wurde der sogenannte Circulating Immune Complex (CIC)-ELISA entwickelt, der auf dem Nachweis von Immunkomplexen bestehend aus an Antikörper gebundenen Bornavirusantigenen beruht [120]. Ein eindeutiger Nachweis, dass mit Antikörpern komplexierte BoDV-Proteine (P und N) mit dem Verfahren in Probanden-Seren erfasst werden, konnte nicht erbracht werden. Eine Überprüfung von mutmaßlichen im CIC-Test positiven Plasmen von Blutspendern ergab keinen Nachweis viraler Antigene (N, P) [121].

Western Blot. Der Western Blot wird meist zur Bestätigung von reaktivem Serum, Plasma oder Liquor eingesetzt. Seren von Tieren mit bestätigter Bornavirusinfektion reagieren mit den beiden Hauptantigenen N und P, wohingegen in Antikörpersuchtesten reaktive Seren von Menschen in der Regel nicht oder nur mit einem der beiden Antigene reagieren. Inwieweit ein Western Blot-Ergebnis mit der Reaktion gegen nur eines der Antigene als eine bestätigte Exposition und immunologische Auseinandersetzung mit dem Erreger bewertet werden kann, wird kontrovers diskutiert. Bisher gibt es keinen Konsens in der Bewertung der Reaktionsmuster.

Nachweis von infektiösem Virus. Der experimentelle Nachweis von Bornavirusinfektionen wurde durch die Verwendung kleiner Versuchstiere wie Kaninchen durch Zwick und Mitarbeiter geführt [8, 9]. Die Infektion erfolgte in der Regel durch intrazerebrale Inokulation von Organhomogenaten wie Gehirn, durch nachfolgende Beurteilung des Krankheitsverlaufs und abschließenden Nachweis von Joest-Degen-Einschlusskörpern.

Die Anzucht von BoDV in der Zellkultur ist zeit- und arbeitsaufwändig und nicht routinemäßig erfolgreich. Da BoDV stark zellassoziiert vorliegt, kann insbesondere die Kokultivierung von infiziertem Gewebe mit permanenten Zelllinien des Nervensystems wie Oligodendrogliazellen oder Nieren- und Hautzelllinien verschiedener Spezies erfolgreich sein. Da BoDV keinen zytopathischen Effekt in Zellen hervorruft, erfolgt der Nachweis infizierter Zellen mit Hilfe der indirekten Immunfluoreszenz unter Verwendung BoDV-positiver Seren oder monoklonaler Antikörper.

Nachweis von viraler BoDV-RNA. Mit Hilfe der RT-PCR konnte in *post mortem*-Proben von natürlich oder experimentell infizierten Tieren die Virusbelastung von Organen und Körperflüssigkeiten untersucht werden. Zudem eignet sich die Methode zum *in vivo*-Nachweis von Bornavirus-Genomen oder Genomäquivalenten in Ausscheidungen und Körperflüssigkeiten. Für die Diagnostik von Menschen mit Verdacht auf eine Erkrankung durch eine Bornavirusinfektion kann die RT-PCR eingesetzt werden [4, 76, 122]. Jedoch findet man im Serum keine oder nur geringe Viruslasten. Höhere Viruslasten können in der CSF auftreten.

Das häufig verwendete nested RT-PCR-Verfahren zum Nachweis niedriger Mengen an viraler RNA ist anfällig für Kreuzkontaminationen [82]. Es ist belegt, dass Kreuzkontaminationen zu falsch-positiven Ergebnissen beim Nachweis von Bornavirussequenzen in animalen und humanen Patientenproben geführt haben [12, 81]. Dies führte teilweise zu Fehlinterpretationen einer Beteiligung von Bornaviren an Erkrankungen von Menschen und Tieren.

Die Sequenzierung der verschiedenen Bornaviren der Säugetiere, Schlangen und Vögel ermöglicht es neue RT-PCR-Systeme zu entwickeln, die ein breites Spektrum an verschiedenen Bornaviren erkennen.

Neue Methoden zur Identifizierung unbekannter Krankheitserreger. Die Einführung der Next Generation Sequencing (NGS)-Technologien hat die Identifizierung von bisher unbekanntem oder unerwarteten Krankheitserregern in Patientenproben ermöglicht. Sowohl der Nachweis von VSBV-1 bei Hörnchenzüchtern als auch von BoDV-1 bei den Transplantationsfällen und die Diagnose der weiteren BoDV-1-Enzephalitiden gelangen durch den Einsatz dieser neuen Technologie. Sie hat sich somit in den letzten Jahren zu einem wertvollen Instrument in der Diagnostik u. a. von Krankheitserregern etabliert.

Prävention. Nach annähernd hundert Jahren experimenteller Tätigkeit mit BoDV-1, z. T. mit unzureichenden Schutzmaßnahmen, gibt es bislang keine Hinweise auf eine Übertragung auf Laborpersonal. Unabhängig davon müssen nach den Übertragungen von BoDV- und VSBV-1 auf den Menschen Präventivmaßnahmen zukünftig unbedingt beachtet werden (s. a. TRBA 260, TRBA 462 und ZKBS). Prinzipiell sollten beim Umgang mit Labortieren oder potenziell infizierten Tieren geeignete Sicherheitsmaßnahmen eingehalten werden, die das Risiko einer Bissverletzung oder Verletzung mit scharfen Instrumenten wie Nadeln und Scheren oder Exposition zu kontaminierten Aerosolen bzw. Stäuben minimieren.

Der Umgang mit persistent infizierten Tieren wie Bunthörnchen, Schönhörnchen und Feldspitzmäusen oder experimentell infizierten Labortieren wie z. B. neonatal infizierten Ratten kann ein erhöhtes Risiko darstellen, da persistent infizierte Tiere Virus in hohen Mengen in Körperflüssigkeiten wie Speichel, Nasensekret und Urin sowie Kot ausscheiden. Tragen von persönlicher Schutzkleidung wie Handschuhe, Mund- und Augenschutz kann das Risiko der Übertragung von Bornaviren wie BoDV-1 oder VSBV-1 weitgehend reduzieren. Die wirksams-

te Maßnahme zur Verhinderung von Infektionen z. B. durch persistent infizierte Hörnchen ist jedoch die Eliminierung von Virusausscheidern aus Tierzuchten, wie es z. B. für die Sanierung von LCMV-verseuchten Mäuse- und Hamsterzuchten erfolgreich durchgeführt wurde.

Therapie und Prophylaxe. Eine Inhibition der Vermehrung von BoDV-1 durch Ribavirin in Zellkulturen und Wirksamkeit in experimentell infizierten Tieren (Ratten und Gerbils) wurde gezeigt [123]. Die Behandlung eines Patienten mit einer VSBV-1-Enzephalitis mit Ribavirin zeigte jedoch keine klinische Verbesserung [4, Supplementary Anhang]. Im Gegensatz dazu erhielt der Überlebende der transplantationsassoziierten Fälle als Einziger Ribavirin [1, Supplementary]. Es kann daher aktuell nicht beurteilt werden, ob Ribavirin ein wirksames Therapeutikum bei BoDV-1-Infektionen sein könnte.

Impfungen wurden in Deutschland bei Pferden und Schafen seit den 1920er Jahren durchgeführt. Nach dem Zweiten Weltkrieg wurde in Westdeutschland an Kaninchen attenuiertes Material auf der Basis des Stammes V eingesetzt. Ein zugelassener attenuierter Lebendimpfstoff (Stamm Dessau) stand noch bis zum Jahr 1992 zur Verfügung. Der Impfstoff induziert partiell neutralisierende Antikörper bei geimpften Pferden, die bald wieder unter die Nachweisgrenze sinken [124]. Eine Ausbreitung des Virus durch die Impfung kann aufgrund der etablierten Sequenzcluster ausgeschlossen werden [73]. Die Inzidenz der Bornaschen Erkrankung war bei geimpften und ungeimpften Tieren gleich [125].

Untersuchungen bei Ratten zeigten, dass diese bei unterschiedlichen Impfstoffen teilweise einen Schutz entwickelten [126, 127]. Bisher sind keine Untersuchungen zur Entwicklung von Impfstoffen für den Menschen bekannt.

2 Blut- und Plasmaspender

2.1 Prävalenz und Inzidenz bei Spenderkollektiven

Es gibt bisher nur wenige dokumentierte Fälle beim Menschen. Belastbare Angaben zu Prävalenz und Inzidenz in der All-

gemeinbevölkerung und in Blutspendern liegen nicht vor.

2.2 Definition von Ausschlusskriterien

Zur Ermittlung der Ausschlusskriterien für Blutspendewillige gelten grundsätzlich die Hämotherapierichtlinien [128]. Personen mit Symptomen einer akuten neurologischen Erkrankung oder Infektion werden nicht zur Spende zugelassen. Nach dem jetzigen Stand der Erkenntnisse können keine zusätzlichen Ausschlusskriterien für asymptomatisch Infizierte oder infektionsgefährdete Spendewillige definiert werden.

2.3 Spendertestung und Aussagekraft

Aufgrund der derzeitigen epidemiologischen Erkenntnisse ist eine Spendertestung auf Bornaviren nicht angezeigt. Der Nachweis von Bornavirus im Blut gelang nach dem heutigen Stand des Wissens bei den wenigen bisher bekannt gewordenen Erkrankungen nicht regelhaft und wenn überhaupt erst spät bei klinisch Erkrankten. Der Nachweis von Bornavirus-spezifischen Antikörpern gelang nur bei Personen mit klinischen Symptomen. Bisher fehlen epidemiologische Untersuchungen, die Hinweise/Auskunft über Personen geben, die eine Bornavirusinfektion überstanden haben.

2.4 Spenderbefragung

Für eine spezielle Befragung von Spendern gibt es mangels Kenntnis der Infektionswege und der Infektionsquellen keine Grundlage. Eine Spenderbefragung im Hinblick auf Wohnort (Endemiegebiet) oder Umgang mit exotischen Hörnchen erscheint auf der Basis des gegenwärtigen Wissensstandes nicht weiterführend.

2.5 Spenderinformation und -beratung

Da keine spezielle Untersuchung auf Bornavirus-Marker erfolgt, ist keine Bornavirus-spezifische Spenderinformation möglich und sinnvoll.

3 Empfänger

3.1 Prävalenz und Inzidenz von blutassoziierten Infektionen und Infektionskrankheiten bei Empfängerkollektiven

Die Übertragbarkeit von BoDV-1 von Mensch zu Mensch ist durch die Infektion von Transplantatempfängern belegt. Bisher gibt es keine Hinweise darauf, dass BoDV-1 durch Blut oder Blutprodukte übertragen wird.

3.2 Abwehrlage (Resistenz, vorhandene Immunität, Immunreaktivität, Alter, exogene Faktoren)

Es ist davon auszugehen, dass in der Allgemeinbevölkerung keine Immunität gegen BoDV-1 vorhanden ist. Das Risiko der Übertragung der Infektion auf Menschen durch nicht inaktivierte Blutprodukte ist aufgrund der epidemiologischen Daten nach heutigem Kenntnisstand als äußerst gering einzuschätzen. Eine Aktivierung der Replikation des BoDV-1 in infizierten Organen unter immunsuppressiver Therapie kann aufgrund der kürzlich publizierten Erkrankungsfälle in Betracht gezogen werden.

3.3 Schweregrad und Verlauf der Erkrankung

Erkenntnisse zum Infektionsverlauf und zum Schweregrad der Erkrankung konnten durch den Verlauf bei den mit BoDV-1 und VSBV-1 infizierten Patienten gewonnen werden. Im Verlauf der Infektion mit VSBV-1 zeigten die Infizierten vergleichbare neurologische Symptome und entwickelten eine progressiv verlaufende Enzephalitis bzw. Meningoenzephalitis.

3.4 Therapie und Prophylaxe

Bisher gibt es keine spezifische Therapie der Bornavirusinfektion. Inwieweit andere für die Behandlung von Virusinfektionen zugelassene Wirkstoffe wie Ribavirin eine Wirksamkeit bei Bornavirusinfektionen des Menschen haben oder andere Therapieoptionen möglich sind, muss weiter untersucht werden.

3.5 Übertragbarkeit

Eine Übertragung durch Blut oder Blutprodukte ist nicht beschrieben worden. Im Blut von durch BoDV-1 erkrankten Personen konnten mit der PCR keine oder nur sehr geringe Mengen viraler Sequenzen von BoDV mit einer quantitativen PCR nachgewiesen werden. Eine Mensch-zu-Mensch-Übertragung von BoDV-1 wurde bisher nur bei Transplantatempfängern belegt (siehe 3.1). Die Infektionsquelle und Übertragungswege für die nachgewiesenen BoDV-1-Infektionen bei Menschen in Endemiegebieten sind nicht bekannt. Eine Übertragung von BoDV-1 oder VSBV-1 von Mensch zu Mensch durch soziale Kontakte wurde nicht beobachtet.

3.6 Häufigkeit der Applikation sowie Art und Menge der Blutprodukte

Übertragungen von BoDV-1 und VSBV-1 durch Plasmaderivate und nicht-inaktivierte Blutkomponenten wie Erythrozyten- und Thrombozyten-Präparate oder Plasma zur Transfusion (*fresh frozen plasma*) sind bisher nicht bekannt. Plasmaderivate werden bei der Herstellung Verfahren zur Inaktivierung von Infektionserregern unterzogen, die mehrere wirksame Inaktivierungs- bzw. Abreicherungs-schritte insbesondere für umhüllte Viren enthalten. Es ist davon auszugehen, dass Plasmaderivate einen hohen Sicherheitsstandard haben und Bornaviren nicht übertragen würden.

Zur Inaktivierung von BoDV-1 in zellulären Blutkomponenten liegen keine Untersuchungen vor.

4 Blutprodukte

4.1 Belastung des Ausgangsmaterials und Testmethoden

Bisher liegen keine Erkenntnisse zur Belastung von Ausgangsmaterialien zur Herstellung von Blutkomponenten und Plasmaderivaten vor. Im Blut von durch BoDV-1 erkrankten Personen konnten mit der BoDV-PCR keine oder nur sehr geringe Mengen viraler Sequenzen nach-

gewiesen werden. Für den Nachweis von Virusgenomen und Antikörpern stehen bisher nur *in-house*-Testverfahren zur Verfügung. Testverfahren, die zum Screening von Spendern geeignet wären, sind derzeit nicht verfügbar.

4.2 Möglichkeiten zur Abtrennung und Inaktivierung von Infektionserregern

Bisher stehen gezielte Untersuchungen zur Abtrennung und Inaktivierung von Bornaviren in Plasmaderivaten aus. Die Untersuchungen zur Stabilität von BoDV legen jedoch nahe, dass die bei der Herstellung von Plasmaderivaten eingesetzten kombinierten Verfahrensschritte, die eine hohe Wirksamkeit zur Inaktivierung bzw. Eliminierung von umhüllten Viren gezeigt haben, auch BoDV effektiv inaktivieren. Da BoDV eine hohe Empfindlichkeit gegenüber Lipidlösungsmitteln aufweist, ist anzunehmen, dass für die Herstellung von Plasma eingesetzte SD-Verfahren Bornaviruspartikel inaktivieren.

Inwieweit BoDV in Blutkomponenten wie Erythrozyten- bzw. Thrombozytenkonzentraten durch die Pathogeninaktivierungsverfahren inaktiviert wird, ist nicht untersucht.

4.3 Praktikabilität und Validierbarkeit der Verfahren zur Eliminierung/Inaktivierung von Infektionserregern

BoDV liegt zellgebunden vor. Hochtitrige infektiöse Viruspräparationen können bisher nur durch Homogenisierung BoDV-1-infizierter Zellen oder von Gehirnen infizierter Tiere hergestellt werden. Einzelne Schritte der Virusinaktivierung wie Hitzebehandlung oder Behandlung mit Detergenzien könnten durch Speiken von Plasma oder von Zwischenprodukten überprüft werden. Vergleichbare Versuchsansätze können auch für die Validierung bei zellulären Blutkomponenten eingesetzt werden, sind bisher aber nicht durchgeführt worden.

Literatur

- Schlottau K, Forth L, Angstwurm K et al (2018) Fatal Encephalitic Borna Disease Virus 1 in Solid-Organ Transplant Recipients. *N Engl J Med* 379:1377–1379
- Korn K, Coras R, Bobinger T et al (2018) Fatal Encephalitis Associated with Borna Disease Virus 1. *N Engl J Med* 379:1375–1377
- Friedrich-Loeffler-Institut (2018) Humane Infektionen mit dem Borna Disease Virus (BoDV-1). *Epid Bull* 2018:105
- Hoffmann B, Tappe D, Höper D et al (2015) A Variegated Squirrel Bornavirus associated with fatal human encephalitis. *N Engl J Med* 373:154–162
- Dürrwald R, Ludwig H (1997) Borna disease virus (BDV), a (zoonotic?) worldwide pathogen. A review of the history of the disease and the virus infection with comprehensive bibliography. *Zentralbl Veterinarmed B* 44:147–184
- Joest E, Degen K (1909) Über eigentümliche Kerneinschlüsse der Ganglienzellen bei der enzootischen Gehirn-Rückenmarksentzündung der Pferde. *Z Infkrkh* 6:348–356
- Joest E, Degen K (1911) Untersuchungen über die pathologische Histologie, Pathogenese und postmortale Diagnose der seuchenhaften Gehirn-Rückenmarksentzündung (Bornasche Krankheit) der Pferde. *Z Infkrkh* 9:1–98
- Zwick W, Seifried O, Witte J (1927) Experimentelle Untersuchungen über die seuchenhafte Gehirn- und Rückenmarksentzündung der Pferde (Bornasche Krankheit). *Z Infkrkh Haustiere* 30:42–136
- Zwick W, Seifried O (1925) Übertragbarkeit der seuchenhaften Gehirn- und Rückenmarksentzündung des Pferdes (Bornasche Krankheit) auf kleine Versuchstiere (Kaninchen). *Berl Tierärztl Wochenschr* 41:129–132
- Zwick W (1939) Bornasche Krankheit und Enzephalomyelitis der Tiere. In: *Gildemeister H, Haagen E, Waldmann F (Hrsg) Handbuch der Viruserkrankungen der Tiere*. Gustav Fischer, Jena, S 252–354
- Rott R, Herzog S, Fleischer B et al (1985) Detection of serum antibodies to Borna disease virus in patients with psychiatric disorders. *Science* 228:755–756
- Hornig M, Briese T, Lipkin WI (2003) Borna disease virus. *J Neurovirol* 9:259–273
- Bode L, Riegel S, Lange W, Ludwig H (1992) Human infections with Borna disease virus: seroprevalence in patients with chronic diseases and healthy individuals. *J Med Virol* 36:309–315
- Riegel S (1990) Nachweis von Serumantikörpern gegen Borna-Virus-spezifisches Antigen beim Menschen. Freie Universität, Berlin
- Schwemmler M (2001) Borna disease virus infection in psychiatric patients: are we on the right track? *Lancet Infect Dis* 1:46–52
- Lipkin WI, Briese T, Hornig M (2011) Borna disease virus—fact and fantasy. *Virus Res* 162:162–172
- Kuhn JH, Dürrwald R, Bào Y et al (2015) Taxonomic reorganization of the family *Bornaviridae*. *Arch Virol* 160:621–632
- Amarasinghe GK, Aréchiga Ceballos NG, Banyard AC et al (2018) Taxonomy of the order Mononegavirales: update 2018. *Arch Virol* 163:2283–2294
- Kistler AL, Gancz A, Clubb S et al (2008) Recovery of divergent avian bornaviruses from cases of

- proventricular dilatation disease: identification of a candidate etiologic agent. *Virol J* 5:88
20. Honkavuori KS, Shivaprasad HL, Williams BL et al (2008) Novel borna virus in psittacine birds with proventricular dilatation disease. *Emerg Infect Dis* 14:1883–1886
 21. Horie M, Honda T, Suzuki Y et al (2010) Endogenous non-retroviral RNA virus elements in mammalian genomes. *Nature* 463:84–87
 22. Hyndman TH, Shilton CM, Stenglein MD, Wellehan JFX Jr (2018) Divergent bornaviruses from Australian carpet pythons with neurological disease date the origin of extant Bornaviridae prior to the end-Cretaceous extinction. *Plos Pathog* 14:e1006881
 23. Zimmermann V, Rinder M, Kaspers B, Staeheli P, Rubbenstroth D (2014) Impact of antigenic diversity on laboratory diagnosis of avian bornavirus infections in birds. *J Vet Diagn Invest* 26:769–777
 24. Shi M, Lin XD, Chen X et al (2018) The evolutionary history of vertebrate RNA viruses. *Nature* 556:197–202
 25. Nowotny N, Kolodziejek J, Jehle CO, Suchy A, Staeheli P, Schwemmler M (2000) Isolation and characterization of a new subtype of Borna disease virus. *J Virol* 74:5655–5658
 26. de la Torre JC (2002) Molecular biology of Borna disease virus and persistence. *Front Biosci* 7:d569–579
 27. Pauli G, Ludwig H (1985) Increase of virus yields and releases of Borna disease virus from persistently infected cells. *Virus Res* 2:29–33
 28. Briese T, Schneemann A, Lewis AJ et al (1994) Genomic organization of Borna disease virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:4362–4366
 29. Cubitt B, Oldstone C, de la Torre JC (1994) Sequence and genome organization of Borna disease virus. *J Virol* 68:1382–1396
 30. Honda T, Tomonaga K (2013) Nucleocytoplasmic shuttling of viral proteins in Borna disease virus infection. *Viruses* 5:1978–1990
 31. Lennartz F, Bayer K, Czerwonka N et al (2016) Surface glycoprotein of Borna disease virus mediates virus spread from cell to cell. *Cell Microbiol* 18:340–354
 32. Gosztanyi G (2008) Natural and experimental Borna disease virus infections—neuropathology and pathogenetic considerations. *APMIS* 116(Suppl 124):53–57
 33. Briese T, de la Torre JC, Lewis A, Ludwig H, Lipkin WI (1992) Borna disease virus, a negative-strand RNA virus, transcribes in the nucleus of infected cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:11486–11489
 34. Schneemann A, Schneider PA, Lamb RA, Lipkin WI (1995) The remarkable coding strategy of borna disease virus: a new member of the nonsegmented negative strand RNA viruses. *Virology* 210:1–8
 35. Danner K, Mayr A (1979) In vitro studies on Borna virus. II. Properties of the virus. *Arch Virol* 61:261–271
 36. Grunmach J (1986) Zur Biologie des Borna-Virus. Inaugural-Dissertation, Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin.
 37. von Sprockhoff H (1953) Der Stand unserer derzeitigen Kenntnisse über die Borna'sche Krankheit. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr* 66:368–371
 38. Tizard I, Ball J, Stoica G, Payne S (2016) The pathogenesis of bornaviral diseases in mammals. *Anim Health Res Rev* 17:92–109
 39. Krey HF, Ludwig H, Boschek CB (1979) Multifocal retinopathy in Borna disease virus infected rabbits. *Am J Ophthalmol* 87:157–164
 40. Krey HF, Ludwig H, Rott R (1979) Spread of infectious virus along the optic nerve into the retina in Borna disease virus-infected rabbits. *Arch Virol* 61:283–288
 41. Dietzel J, Kuhrt H, Stahl T et al (2007) Morphometric analysis of the retina from horses infected with the Borna disease virus. *Vet Pathol* 44:57–63
 42. Herzog S, Kompter C, Frese K, Rott R (1984) Replication of Borna disease virus in rats: age-dependent differences in tissue distribution. *Med Microbiol Immunol* 173:171–177
 43. Sprankel H, Richarz K, Ludwig H, Rott R (1978) Behavior alterations in tree shrews (*Tupaia glis*, Diard 1820) induced by Borna disease virus. *Med Microbiol Immunol* 165:1–18
 44. Watanabe M, Lee BJ, Kamitani W et al (2001) Neurological diseases and viral dynamics in the brains of neonatally borna disease virus-infected gerbils. *Virology* 282:65–76
 45. Nobach D, Bourg M, Herzog S et al (2015) Shedding of infectious Borna Disease Virus-1 in living bicolored white-toothed shrews. *PLoS ONE* 10:e137018
 46. Schlottau K, Hoffmann B, Homeier-Bachmann T et al (2017) Multiple detection of zoonotic variegated squirrel bornavirus 1 RNA in different squirrel species suggests a possible unknown origin for the virus. *Arch Virol* 162:2747–2754
 47. Schlottau K, Jenckel M, van den Brand J et al (2017) Variegated Squirrel Bornavirus 1 in squirrels, Germany and the Netherlands. *Emerg Infect Dis* 23:477–481
 48. Schmidt J (1912) Untersuchungen über das klinische Verhalten der seuchenhaften Gehirnrückenmarksentzündung (Bornaschen-Krankheit) des Pferdes nebst Angaben über diesbezügliche therapeutische Versuche. *Berl Tierärztl Wochenschr* 28(581–586):597–603
 49. Schmidt J (1952) Die Bornakrankheit des Pferdes. 55 Jahre Forschung und Lehre. *Arch Exp Veterinarmed* 6:177–187
 50. Richt J, Stitz L, Deschl U, Frese K, Rott R (1990) Borna disease virus-induced meningoencephalomyelitis caused by a virus-specific CD4+ T cell-mediated immune reaction. *J Gen Virol* 71:2565–2573
 51. Hausmann J, Hallensleben W, de la Torre JC et al (1999) T cell ignorance in mice to Borna disease virus can be overcome by peripheral expression of the viral nucleoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:9769–9774
 52. Hausmann J, Schamel K, Staeheli P (2001) CD8(+) T lymphocytes mediate Borna disease virus-induced immunopathology independently of perforin. *J Virol* 75:10460–10466
 53. Stitz L, Bilzer T, Richt JA, Rott R (1993) Pathogenesis of Borna disease. *Arch Virol Suppl* 7:135–151
 54. Rott R, Becht H (1995) Natural and experimental Borna disease in animals. *Curr Top Microbiol Immunol* 190:17–30
 55. Bilzer T, Grabner A, Stitz L (1996) Immunopathology of Borna disease in the horse: clinical, virological and neuropathologic findings. *Tierärztl Prax* 24:567–576
 56. 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
 57. Metzler A, Minder HP, Wegmann C, Zindel W (1979) Die Borna'sche Krankheit, ein veterinärmedizinisches Problem von regionaler Bedeutung. *Schweiz Arch Tierheilk* 121:207–213
 58. Waelchli RO, Ehrensperger F, Metzler A, Winder C (1985) Borna disease in a sheep. *Vet Rec* 117:499–500
 59. Jacobsen B, Algermissen D, Schaudien D et al (2010) Borna disease in an adult alpaca stallion (*Lama pacos*). *J Comp Pathol* 143:203–208
 60. Altmann D, Kronberger H, Schüppel KF, Lippmann R, Altmann J (1976) Bornasche Krankheit (Meningo-Encephalomyelitis simplex enzootica equorum) bei Neuwelttylopiden und Equiden. *Verh Ber Erkr Zootiere* 18:127–132
 61. Schüppel KF, Kinne J, Reinacher M (1994) Bornavirus-Antigennachweis bei Alpakas (*Lama pacos*) sowie bei einem Faultier (*Choloepus didactylus*) und einem Zwergflussspferd (*Choeropsis liberiensis*). In: Hofmann RR, Ippen R (Hrsg) Verhandlungsbericht XXXVI. Internationales Symposium über Erkrankungen von Zootieren, Bd. 11. Akademie-Verlag, Berlin, S 189–194
 62. Lundgren AL, Johannisson A, Zimmermann W et al (1997) Neurological disease and encephalitis in cats experimentally infected with Borna disease virus. *Acta Neuropathol* 93:391–401
 63. Wensman JJ, Jäderlund KH, Holst BS, Berg M (2014) Borna disease virus infection in cats. *Vet J* 201:142–149
 64. Lutz H, Addie DD, Boucraut-Baralon C et al (2015) Borna disease virus infection in cats: ABCD guidelines on prevention and management. *J Feline Med Surg* 17:614–616
 65. Nowotny N (1999) Borna disease in cats. *Vet Rec* 144:187
 66. Dürrwald R, Kolodziejek J, Muluneh A, Herzog S, Nowotny N (2006) Epidemiological pattern of classical Borna disease and regional genetic clustering of Borna disease viruses point towards the existence of to-date unknown endemic reservoir host populations. *Microbes Infect* 8:917–929
 67. Bilzer T, Planz O, Lipkin WI, Stitz L (1995) Presence of CD4+ and CD8+ T cells and expression of MHC class I and MHC class II antigen in horses with Borna disease virus-induced encephalitis. *Brain Pathol* 5:223–230
 68. Cervós-Navarro J, Roggendorf W, Ludwig H, Stitz H (1981) The encephalitic reaction in Borna disease virus infected rhesus monkeys. *Verh Dtsch Ges Pathol* 65:208–212
 69. Nishino Y, Kobasa D, Rubin SA, Pletnikov MV, Carbone KM (2002) Enhanced neurovirulence of Borna disease virus variants associated with nucleotide changes in the glycoprotein and L polymerase genes. *J Virol* 76:8650–8658
 70. Ackermann A, Staeheli P, Schneider U (2007) Adaptation of Borna disease virus to new host species attributed to altered regulation of viral polymerase activity. *J Virol* 81:7933–7940
 71. Narayan O, Herzog S, Frese K, Scheefers H, Rott R (1983) Pathogenesis of Borna disease in rats: immune-mediated viral ophthalmoneurophalopathy causing blindness and behavioral abnormalities. *J Infect Dis* 148:305–315
 72. Stitz L, Krey H, Ludwig H (1980) Borna disease in rhesus monkeys as a model for uveo-cerebral symptoms. *J Med Virol* 6:333–340
 73. Kolodziejek J, Dürrwald R, Herzog S, Ehrensperger F, Lussy H, Nowotny N (2005) Genetic clustering of Borna disease virus natural animal isolates, laboratory and vaccine strains strongly

- reflects their regional geographical origin. *J Gen Virol* 86:385–398
74. Charrel RN, de Lamballerie X (2010) Zoonotic aspects of arenavirus infections. *Vet Microbiol* 140:213–220
 75. Rupprecht CE, Hanlon CA, Hemachudha T (2002) Rabies re-examined. *Lancet Infect Dis* 2:327–343
 76. Tappe D, Schlottau K, Cadar D et al (2018) Occupation-associated fatal limbic encephalitis caused by Variegated Squirrel Bornavirus 1, Germany, 2013. *Emerg Infect Dis* 24:978–987
 77. Tappe D, Schmidt-Chanasit J, Beer M (2015) Bornavirus Associated with Fatal Human Encephalitis. *N Engl J Med* 373:1880–1881
 78. Nicolau S, Galloway IA (1927) Preliminary note on the experimental study of enzootic encephalo-mylitis (Borna disease). *Br J Exp Pathol* 8:336–341
 79. Seifried O, Spatz H (1930) Die Ausbreitung der enzephalitischen Reaktion bei der Bornaschen Krankheit der Pferde und deren Beziehungen zu der Enzephalitis epidemica, zur Heine-Medischen Krankheit und der Lyssa des Menschen. Eine vergleichend-pathologische Studie. *Z Ges Neurol Psychiat* 124:317–383
 80. Chalmers RM, Thomas DR, Salmon RL (2005) Borna disease virus and the evidence for human pathogenicity: a systematic review. *QJM* 98:255–274
 81. Dürrwald R, Kolodziejek J, Herzog S, Nowotny N (2007) Meta-analysis of putative human bornavirus sequences fails to provide evidence implicating Borna disease virus in mental illness. *Rev Med Virol* 17:181–203
 82. Hornig M, Briese T, Licinio J et al (2012) Absence of evidence for bornavirus infection in schizophrenia, bipolar disorder and major depressive disorder. *Mol Psychiatry* 17:486–493
 83. Gosztonyi G, Ludwig H (1995) Borna disease—neuropathology and pathogenesis. *Curr Top Microbiol Immunol* 190:39–73
 84. Rinder M, Ackermann A, Kempf H, Kaspers B, Korbel R, Staeheli P (2009) Broad tissue and cell tropism of avian bornavirus in parrots with proventricular dilatation disease. *J Virol* 83:5401–5407
 85. Payne SL, Delnatte P, Guo J, Heatley JJ, Tizard I, Smith DA (2012) Birds and bornaviruses. *Anim Health Res Rev* 13:145–156
 86. Kerski A, de Kloet AH, de Kloet SR (2012) Vertical transmission of avian bornavirus in Psittaciformes: avian bornavirus RNA and anti-avian bornavirus antibodies in eggs, embryos, and hatchlings obtained from infected sun conures (*Aratinga solstitialis*). *Avian Dis* 56:471–478
 87. Gy P, Hoppes S, Suchodolski P et al (2010) Use of avian bornavirus isolates to induce proventricular dilatation disease in conures. *Emerg Infect Dis* 16:473–479
 88. Ludwig H, Becht H, Groh L (1973) Borna disease (BD), a slow virus infection. Biological properties of the virus. *Med Microbiol Immunol* 158:275–289
 89. Ludwig H, Bode L, Gosztonyi G (1988) Borna disease: a persistent virus infection of the central nervous system. *Prog Med Virol* 35:107–151
 90. Zwick W (1926) Ueber die ansteckende Gehirn- und Rückenmarksentzündung (Bornasche Krankheit) der Pferde. *Tierärztliche Rundschau* 32:801–802
 91. 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
 92. Rubbenstroth D, Schmidt V, Rinder M et al (2016) Phylogenetic analysis supports horizontal transmission as a driving force of the spread of avian bornaviruses. *PLoS ONE* 11:e160936
 93. Belyi VA, Levine AJ, Skalka AM (2010) Sequences from ancestral single-stranded DNA viruses in vertebrate genomes: the parvoviridae and circoviridae are more than 40 to 50 million years old. *J Virol* 84:12458–12462
 94. Horie M, Kobayashi Y, Suzuki Y, Tomonaga K (2013) Comprehensive analysis of endogenous bornavirus-like elements in eukaryote genomes. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 368:20120499
 95. Horie M (2017) The biological significance of bornavirus-derived genes in mammals. *Curr Opin Virol* 25:1–6
 96. Honda T, Tomonaga K (2016) Endogenous non-retroviral RNA virus elements evidence a novel type of antiviral immunity. *Mob Genet Elements* 6:e1165785
 97. Suzuki Y, Kobayashi Y, Horie M, Tomonaga K (2014) Origin of an endogenous bornavirus-like nucleoprotein element in thirteen-lined ground squirrels. *Genes Genet Syst* 89:143–148
 98. Fujino K, Horie M, Honda T, Merriman DK, Tomonaga K (2014) Inhibition of Borna disease virus replication by an endogenous bornavirus-like element in the ground squirrel genome. *Proc Natl Acad Sci USA* 111:13175–13180
 99. Horie M, Tomonaga K (2018) Paleovirology of bornaviruses: What can be learned from molecular fossils of bornaviruses. *Virus Res.* <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2018.04.006> (2018 Apr 6)
 100. He P, Sun L, Zhu D et al (2016) Knock-Down of Endogenous Bornavirus-Like Nucleoprotein 1 Inhibits Cell Growth and Induces Apoptosis in Human Oligodendroglia Cells. *Int J Mol Sci* 17:435
 101. Weissenböck H, Bagó Z, Kolodziejek J et al (2017) Infections of horses and shrews with Bornaviruses in Upper Austria: a novel endemic area of Borna disease. *Emerg Microbes Infect* 6:e52
 102. He M, An TZ, Teng CB (2014) Evolution of mammalian and avian bornaviruses. *Mol Phylogenet Evol* 79:385–391
 103. Schwemmle M, Jehle C, Formella S, Staeheli P (1999) Sequence similarities between human bornavirus isolates and laboratory strains question human origin. *Lancet* 354:1973–1974
 104. Staeheli P, Sauder C, Hausmann J, Ehrensperger F, Schwemmle M (2000) Epidemiology of Borna disease virus. *J Gen Virol* 81:2123–2135
 105. Hilbe M, Herrsche R, Kolodziejek J, Nowotny N, Zlinszky K, Ehrensperger F (2006) Shrews as reservoir hosts of borna disease virus. *Emerg Infect Dis* 12:675–677
 106. Dürrwald R, Kolodziejek J, Weissenböck H, Nowotny N (2014) The bicolored white-toothed shrew *Crocidura leucodon* (HERMANN 1780) is an indigenous host of mammalian Borna disease virus. *PLoS ONE* 9:e93659
 107. Bourg M, Herzog S, Encarnaçao JA et al (2013) Bicolored white-toothed shrews as reservoir for borna disease virus, Bavaria, Germany. *Emerg Infect Dis* 19:2064–2066
 108. Encarnaçao JA, Herzog S, Eickmann M, Becker NI, Hermes N, Herden C (2013) Landscape features and reservoir occurrence affecting the risk for equine infection with Borna disease virus. *J Wildl Dis* 49:860–868
 109. Dürrwald R, Nowotny N, Beer M, Kuhn JH (2017) Infections caused by bornaviruses. In: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG (Hrsg) *Clinical Virology*, 4. Aufl. ASM Press, Washington DC, S 1395–1408
 110. Morales JA, Herzog S, Kompter C, Frese K, Rott R (1988) Axonal transport of Borna disease virus along olfactory pathways in spontaneously and experimentally infected rats. *Med Microbiol Immunol* 177:51–68
 111. Werner B (2000) Untersuchungen zur vertikalen Übertragung des Virus der Bornaschen Krankheit beim Pferd. *Ludwig-Maximilians-Universität, Tierärztliche Fakultät*
 112. Kang SS, McGavern DB (2008) Lymphocytic choriomeningitis infection of the central nervous system. *Front Biosci* 13:4529–4543
 113. Mayr A, Danner K (1972a) Production of Borna virus in tissue culture. *Proc Soc Exp Biol Med* 140:511–515
 114. Mayr A, Danner K (1972b) In-vitro-Kultivierung von Borna-Virus über Gehirn-Explantate infizierter Tiere. *Zentralbl Veterinärmed B* 19:785–800
 115. Danner K, Mayr A (1973) Fluoreszenzserologische Untersuchungen über das Auftreten von Borna-Virusantigenen in Zellkulturen aus Gehirn-explantaten infizierter Kaninchen. *Zentralbl Veterinärmed B* 20:497–508
 116. Danner K, Heubeck D, Mayr A (1978) In vitro studies on Borna virus. I. The use of cell cultures for the demonstration, titration and production of Borna virus. *Arch Virol* 57:63–75
 117. Danner K, Lüthgen K, Herlyn M, Mayr A (1978) Vergleichende Untersuchungen über Nachweis und Bildung von Serumantikörpern gegen das Borna-Virus. *Zentralbl Veterinärmed B* 25:345–355
 118. Lipkin WI, Travis GH, Carbone KM, Wilson MC (1990) Isolation and characterization of Borna disease agent cDNA clones. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:4184–4188
 119. Briese T, Hatalski CG, Kliche S, Park YS, Lipkin WI (1995) Enzyme-linked immunosorbent assay for detecting antibodies to Borna disease virus-specific proteins. *J Clin Microbiol* 33:348–351
 120. Bode L, Reckwald P, Severus WE et al (2001) 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* 6:481–491
 121. Wolff T, Heins G, Pauli G, Burger R, Kurth R (2006) Failure to detect Borna disease virus antigen and RNA in human blood. *J Clin Virol* 36:309–311
 122. Hoppes S, Gray PL, Payne S, Shivaprasad HL, Tizard I (2010) The isolation, pathogenesis, diagnosis, transmission, and control of avian bornavirus and proventricular dilatation disease. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract* 13:495–508
 123. Jordan I, Briese T, Averett DR, Lipkin WI (1999) Inhibition of Borna disease virus replication by ribavirin. *J Virol* 73:7903–7906
 124. Dürrwald R (1993) Die natürliche Borna-Virus-Infektion der Einhufer und Schafe: Untersuchungen zur Epidemiologie, zu neueren diagnostischen Methoden (PCR, ELISA) und zur Antikörperkinetik bei Pferden nach Vakzination mit Lebendimpfstoff. *Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität, Berlin*
 125. Möhlmann H, Maas A (1960) Wertigkeitsprüfung des Borna-Trockenimpfstoffs „Dessau“ bei Pferden unter den Verhältnissen der Praxis. *Arch Exp Veterinärmed* 14:1267–1280

126. Henkel M, Planz O, Fischer T, Stitz L, Rziha HJ (2005) Prevention of virus persistence and protection against immunopathology after Borna disease virus infection of the brain by a novel Orf virus recombinant. *J Virol* 79:314–325
127. Furrer E, Bilzer T, Stitz L, Planz O (2001) Neutralizing antibodies in persistent Borna disease virus infection: prophylactic effect of gp94-specific monoclonal antibodies in preventing encephalitis. *J Virol* 75:943–951
128. Bundesärztekammer (2017) Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Richtlinie Hämotherapie), Gesamtnovelle 2017. <https://www.bundesaerztekammer.de/aerzte/medizin-ethik/wissenschaftlicher-beirat/veroeffentlichungen/haemotherapie-transfusionsmedizin/richtlinie/>. Zugegriffen: 18. Jan. 2019