

Un nuevo Morbillivirus de la Neumonía Equina y su Transmisión a Humanos.

Al editor: En Septiembre 22 y 23 de 1994, las autoridades veterinarias en Queensland y en el CSIRO Laboratorio Australiano de Salud Animal («Australian Animal Health Laboratory») fueron avisados de un brote de enfermedad respiratoria aguda en caballos en un establo en Brisbane, suburbio de Hendra. El entrenador de los caballos había sido hospitalizado por una enfermedad respiratoria y estuvo en condición crítica. En ese momento, la causa de enfermedad de los caballos era incierta y cualquier nexo entre la enfermedad humana y equina era un pensamiento improbable. Se investigaron causas de envenenamiento, enfermedad exótica, virósica, y bacteriana. EL historial de los caballos en este aspecto fue considerada importante; (Figura 1) dos semanas antes de la enfermedad del entrenador, el 7 de Septiembre, dos caballos habían sido llevados al Hendra desde un establo de pre-carrera en Cannon Hill (6 km). Uno de éstos, una yegua preñada, enfermó y murió en 2 días. El otro caballo fue trasladado luego y nunca llegó a enfermarse. Por el 26 de Septiembre, 13 caballos habían muerto: la yegua; otros 10 caballos en el establo de Hendra; un caballo, que tuvo contacto muy cercano con caballos en el establo de Hendra, en una propiedad vecina; y uno que había sido transportado desde el establo a otro sitio (150 km). Cuatro caballos de Hendra y otros tres (uno en un establo adyacente, uno llevado a Kenilworth, y uno a Samford) se consideraron que habían estado expuestos y se habían recuperado de la enfermedad. Algunos de estos caballos fueron asintomáticos. Nueve caballos de Hendra habían permanecido inafectados. Los caballos enfermos estaban anoréxicos, deprimidos, comúnmente febriles (temperatura hasta 41°C), mostraron tasa respiratoria elevada, y llegaron a estar atáxicos. Una descarga nasal espumosa ocurrió antes de la muerte.

El 14 de Septiembre, el encargado en el establo de Hendra desarrolló una enfermedad semejan-

te a influenza caracterizada por fiebre y mialgia. Al día siguiente, el entrenador de caballos también se enfermó con síntomas similares. Ambos tuvieron contacto con la yegua agonizante, particularmente el entrenador quien se expuso a la descarga nasal mientras trataba de alimentarla; al tener abrasiones en sus manos y brazos. El encargado, un hombre de 40 años de edad, permaneció enfermo por 6 semanas y se recuperó gradualmente. Aparte de mialgia, también tuvo dolores de cabeza, letargo, y vértigo. El entrenador, un hombre de 49 años, era un fuerte fumador y mostró signos compatibles de infección con *Legionella*. Finalmente necesitó ventilación por el distress respiratorio y murió después de 6 días (Selvey L, et al. A novel morbillivirus infection causing severe respiratory illness in humans and horses, remitido).

A principios de la investigación diagnóstica en caballos, la fiebre equina Africana, influenza equina y herpes virus equino hiperagudo fueron excluidos como posibles causas por enzimo inmuno ensayo (ELISA) de captura antigénica, reacción en cadena de la polimerasa (PCR), o microscopía electrónica. Las pruebas para detectar la presencia de *Pasteurella*, *Bacillus anthracis*, *Yersinia*, *Legionella*, *Pseudomonas*, y *Streptobacillus moniliformis* fueron negativos, y venenos consistentes con la patología macroscópica y clínica, tales como el paraquat, fueron excluidos por pruebas específicas.

Sin embargo, dentro de los 3 días, un virus formador de sincicios fue detectado en cultivo de células Vero inoculadas con tejidos del caballo enfermo y luego de ahí en adelante se vio crecer en una amplia gama de células. Estos incluyeron células MDBK, BHK, y RK13. Consecutivamente, un virus formador de sincicios también fue aislado en células LLK-MK2 que se habían inoculado con el tejido de riñón del entrenador difunto. El aislamiento de estos virus y su caracterización preliminar por microscopía electrónica, inmunoelectromicroscopía, serología, y análisis

genéticos se describen en otra parte (Murray PK, et al. A new morbillivirus which caused fatal disease in horses and man, remitido).

En resumen, el análisis ultraestructural mostró que el virus es un miembro de la familia *Paramyxoviridae*. Es envuelto, pleomórfico (varía en tamaño de 38 nm a más de 600 nm), y está cubierto con proyecciones de superficie de 10 nm y 18 nm. Contiene nucleocápsides en forma de espina de pescado que son de 18 nm de diámetro con una periodicidad de 5 nm. La presencia de proyecciones de superficie con «doble flecos» de este virus es considerada única. La inmunoelectromicroscopía mostró que ambos virus, el del caballo y el humano, reaccionaron con los sueros del equino en fase convaleciente y con el suero de los dos casos humanos.

Las sondas (primers) de PCR fueron sintetizados de las secuencias de proteína de acuerdo al *Paramyxoviridae* y se probaron contra el virus equino. Los específicos para paramyxovirus y pneumovirus no pegaron, pero un par de sondas para morbillivirus dieron un producto de 400 bp. La determinación de la secuencia de este producto permitió la síntesis de sondas de virus específica del caballo. El análisis filogenético de la sucesión de la matriz proteica indica que el virus es único y distantemente relacionado a otros miembros conocidos del grupo. Una comparación de las secuencias de proteína M traducida mostró que tiene un 50% de homología con el grupo morbillivirus (80% si son usadas las sustituciones amino-ácido conservadoras). Esta relación distante es apoyada por nuestras observaciones que los antisueros neutralizantes contra el virus de sarampión, distemper canino, y el virus de rinperest fracasaron en neutralizar al virus.

Los virus aislados de caballos y del entrenador son ultraestructuralmente idénticos. Los sueros de los caballos y de los dos casos humanos específicamente neutralizan en forma cruzada al virus, y el primer de PCR del virus del caballo provee una reacción positiva con el virus aislado de humano. Por lo tanto, los caballos y el entrenador se infectaron con el mismo virus.

A principios de la investigación diagnóstica, tejidos de pulmones y bazos de los caballos enfermos se inyectaron en dos caballos receptores. Después de 6 y 10 días, los caballos receptores se enfermaron con fiebre alta y severos signos respiratorios, demostrando que la enfermedad era transmisible. Dos días después los caballos fueron sacrificados y destruidos. El morbillivirus equino fue aislado de los tejidos de ambos caballos. Para documentar que el virus aislado de caballo era patogénico, se realizaron también pruebas experimentales de transmisión. Dos caballos más recibieron un total de 2×10^7 TCID₅₀ de cultivo de tejido de virus por inoculación intravenosa y por aerosol intranasal. Ambos caballos llegaron a enfermarse seriamente, y después de un corto, episodio clínico severo, fueron sacrificados 4 y 5 días después de la exposición. A la necropsia, mostraron

lesiones macroscópicas e histopatológicas que fueron primariamente respiratorias y coincidentes con la enfermedad natural. El virus fue reaislado de pulmones, hígado, bazo, riñón, nódulos linfáticos, y sangre.

La patología de esta infección es interesante. En caballos, la patología macroscópica dominante son lesiones en los pulmones. Estos estaban congestivos y edematosos con dilatación linfática destacada en los márgenes ventrales. En casos naturales, las vías aéreas estaban comúnmente llenas de espuma densa, fina, y estable que estaba ocasionalmente teñida de sangre; ésto no fue visto en los casos experimentales. Histológicamente, en los caballos, hay neumonía intersticial, edema proteináceo con pneumocitos y degeneración capilar. El virus puede ubicarse en las células endoteliales por inmunofluorescencia y células sincitiales también podrían verse en las paredes de los vasos sanguíneos, confirmando el tropismo vascular de este virus (Murray PK, et al, remitido). Los hallazgos post-mortem en el entrenador muerto mostraron similitudes a los de los caballos (Selvey L, et al, remitido).

Ningún otro caso clínico adicional de enfermedad fue visto en caballos o humanos desde este brote¹. La vigilancia serológica de la gente que estuvo en estrecho contacto con los caballos enfermos, mayormente trabajadores del establo, patólogos veterinarios, personal de campo de salud animal, o la gente que vivió en la vecindad de los establos afectados, fueron negativos (Selvey L, et al, remitido).

Se realizó una prueba serológica de todos los caballos en propiedades en cuarentena y dentro de 1 km del establo de Hendra, y un muestreo de caballos del resto de Queensland (Tabla 1). Fueron analizados un total de 1.964 caballos de más de 630 establecimientos. Los resultados negativos de esta prueba indican también que la infección no se ha esparcido. En el muestreo total de los caballos, sólo siete, todos de la propiedad del Hendra y los establos vecinos, fueron positivos. Cuatro de estos animales se habían afectado clínicamente, pero tres fueron asintomáticos. A causa del riesgo potencial y de la dificultad en establecer si estaban libres de la infección, estos siete caballos recuperados se sacrificaron posteriormente.

(1) N. del Editor: desde la aparición de este informe han aparecido nuevos brotes que serán incluidos en posteriores números de REIE

Tabla 1. Caballos y locales analizados por estudio serológico para morbillivirus equino, luego del brote de la enfermedad

	Establecimientos	Caballos
Establos en cuarentena*	13	107
1 (a 100 m del establo de Hendra)	7	54
2 (100 m a 200 m del establo de Hendra)	21	122
3 (200 m a 1 km del establo de Hendra)	93	730
4/5 (remanente de Queensland)	500	963
Total	630	1.964

* Los lugares en cuarentena incluyeron aquellos con casos clínicos, propiedades asociadas al establo de Hendra, y otros locales fueron donde se mantenían caballos bajo investigación.

Aunque la excreción persistente de virus o del estado de portador no se conoce que ocurra en otras infecciones por morbillivirus, este virus equino es único y no puede presumirse que se comporte en forma

similar. Las autoridades veterinarias australianas están ahora satisfechas que el incidente se haya superado.

Hemos descrito una nueva enfermedad registrada en caballos con una obvia potencialidad zoonótica; además, el agente causante no había sido registrado anteriormente y es significativamente diferente de otros miembros de su género, morbillivirus. La infección aparentemente se diseminó desde la yegua que primero mostró los signos clínicos, ahora característicos, a otros caballos en los mismos establos, al caballo en estrecho contacto de un establo adyacente, y también a dos asistentes humanos. Claramente, este brote no fue altamente contagioso y se resolvió rápidamente. Sin embargo, el virus es altamente patogénico con un 65% de caballos naturalmente infectados y con la muerte de los cuatro caballos inoculados experimentalmente.

Investigaciones adicionales del virus y la enfermedad están ahora encaminadas ya que podría reemerger en Australia o en alguna otra parte. Son necesarias investigaciones en conexión con la enfermedad respiratoria equina sobre su origen, su replicación, su patogénesis, y su posible ocurrencia en otras partes.

Keith Murray, Russell Rogers, * Linda Selvey, ** Paul Selleck, Alex Hyatt, Allan Gould, Laurie Gleeson, Peter Hooper, y Harvey Westbury
CSIRO Australian Animal Health Laboratory, Ryrie Street, East Geelong, Victoria 3220, Australia.

* Animal Health Bureau, Queensland Department of Primary Industries, 80 Ann Street, Brisbane, Australia

** Communicable Diseases, Queensland Health, 160 Mary Street, Brisbane 4000, Queensland, Australia