



Patrícia Alexandra Baptista Sousa

## A infeção por vírus Ébola, terapêutica associada e vacinas experimentais

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Paula Cristina Santos Luxo Maia e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Patrícia Alexandra Baptista Sousa

# A infecção por vírus Ébola, terapêutica associada e vacinas experimentais

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Paula Cristina Santos Luxo Maia e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Patrícia Alexandra Baptista Sousa, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2009010544, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 1 de Setembro de 2015.

---

**A Tutora da Monografia**

Paula Cristina Santos Luxo Maia

---

(Professora Doutora Paula Cristina Santos Luxo Maia)

**A Aluna**

Patrícia Alexandra Baptista Sousa

---

(Patrícia Alexandra Baptista Sousa)

## **Agradecimentos**

À Professora Doutora Paula Cristina Santos Luxo Maia por todo o apoio, orientação e disponibilidade ao longo da execução da minha monografia.

A todos os docentes da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra por todos os conhecimentos transmitidos e pela formação de excelência que recebi.

A todos os amigos que me acompanharam ao longo deste percurso.

Um especial agradecimento à família pelo apoio incondicional e por tornar possível a conquista deste grande objetivo.

## Índice

Lista de Abreviaturas	2
Resumo	3
1 – Introdução	4
2 – Vírus Ébola	4
2.1 – Taxonomia viral – Nomenclatura	4
2.2 – Estrutura Viral	5
2.3 – Replicação viral	6
2.4 – Escape a mecanismos anti-virais do hospedeiro	8
2.5 – Ciclo de infecção	9
3 – Ébola: infecção viral	10
3.1 – Transmissão do vírus	10
3.2 – Manifestações clínicas	12
3.2.1 - Período de incubação	12
3.2.2 - Desenvolvimento de sinais e sintomas	12
3.2.3 - Evolução da doença	13
3.2.4 - Dados laboratoriais	13
3.3 – Diagnóstico	14
3.4 – Tratamento	15
3.4.1 - Terapêutica de suporte	16
3.4.2 - Favipiravir	17
3.4.3 - Brincidofovir	17
3.4.4 - ZMapp	17
3.4.5 - TKM – Ebola	18
3.4.6 - AVI-7537	18
3.4.7 - BCX-4430	19
3.4.8 - Plasma convalescente ou sangue total	19
3.4.9 - Outros Agentes	19
4 – Prevenção	20
4.1 – Vacinas experimentais	21
4.1.1 - Vacina cAd3-EBOV	22
4.1.2 - Vacina VSV-EBOV	22
5 – Epidemia de Ébola de 2014-2015	23
6 – Conclusão	25
7 – Bibliografia	26

## Lista de Abreviaturas

ICTV	<i>International Committee on Taxonomy of Viruses</i> (Comité Internacional de Taxonomia Viral)
(-)ssRNA	<i>negative-sense Single Stranded RNA</i> (RNA de cadeia simples com polaridade negativa)
PS	Fosfatidilserina
NPCI	Recetor Niemann-Pick CI
GP	Glicoproteína
RT-PCR	<i>Reverse Transcriptase- Polymerase Chain Reaction</i> (Reação em cadeia da Polimerase associada a transcriptase reversa)
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i> (Centros de Controlo e Prevenção de Doenças)
OMS	Organização Mundial de Saúde
BSL-4	<i>Biosafety Level 4</i> (Nível de biosegurança 4)

## Resumo

O vírus Ébola foi identificado em 1976 e desde então já foram relatados mais de 20 surtos de infecção pelo vírus. A atual epidemia foi provocada pela espécie *Zaire ebolavirus*.

Apesar da infecção pelo vírus Ébola ser uma zoonose em que o reservatório são morcegos frugívoros, a transmissão pessoa a pessoa é essencial para disseminar a infecção. A infecção está associada a taxas de mortalidade entre 50 e 90% e não há ainda disponível nenhum tratamento aprovado para a doença. No entanto estão a ser avaliadas e testadas potenciais vacinas e terapias.

Neste trabalho realizou-se uma revisão bibliográfica da informação disponível sobre o vírus ébola: infecção provocada pelo vírus; diagnóstico; tratamento; prevenção e vacinas experimentais; dados sobre a epidemia de 2014-2015.

## Abstract

Ebola virus was identified in 1976 and since then more than 20 epidemics have been reported. The current outbreak was caused by *Zaire ebolavirus*.

Although Ebola virus infection is a zoonotic disease with the reservoir of fruit bats, human-to-human transmission is essential in the spread of the infection. The infection is associated with mortality rates between 50 and 90% and there isn't yet any approved treatment for the disease. However potential vaccines and therapies are being evaluated and tested.

This paper conducted a literature review of available information on the Ebola virus: infection caused by the virus; diagnostic; treatment; prevention and experimental vaccines; data from the epidemic of 2014-2015.



## I – Introdução

Atualmente a humanidade enfrenta uma epidemia da infecção pelo vírus Ébola que de acordo com a Organização Mundial de Saúde é uma emergência de saúde pública de interesse internacional.

Identificou-se o primeiro doente como sendo um menino de 2 anos de idade de Meliandou, uma pequena aldeia no sul da Guiné, que desenvolveu febre, fezes escuras e vômitos. Dois dias após o início dos sintomas a criança morreu, e através da análise retrospectiva da Organização Mundial de Saúde foi identificado como o primeiro caso da infecção por vírus Ébola na África Ocidental<sup>46</sup>.

A disseminação do vírus ocorreu inicialmente na Guiné e nos seus países de fronteira, Serra Leoa e Libéria, mas houve ainda disseminação através de viajantes (pela via aérea e terrestre) para o Senegal, Mali, Nigéria, Estados Unidos da América, Itália, Espanha e Reino Unido<sup>45</sup>.

Os países mais afetados, Guiné, Libéria e Serra Leoa, têm sistemas de saúde pouco desenvolvidos e não dispõem dos recursos humanos e infraestruturas necessárias para combater eficazmente a infecção<sup>45</sup>.

Foram identificadas cinco espécies do vírus Ébola, das quais três: *Bundibugyo ebolavirus*, *Sudan ebolavirus* e *Zaire ebolavirus*, têm sido associadas com grandes surtos de infecção em África. O vírus que causou a epidemia de 2014-2015 pertence à espécie *Zaire ebolavirus*<sup>45</sup>.

A doença provocada pelo vírus é grave e muitas vezes fatal. Não existe ainda disponível nenhum tratamento aprovado, mas estão a ser avaliadas e testadas potenciais vacinas e terapias, que incluem produtos derivados do sangue, terapias imunológicas e farmacológicas.

## 2 – Vírus Ébola

### 2.1 – Taxonomia viral – Nomenclatura

De acordo com a nomenclatura formal proposta pelo International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV), as espécies do vírus ébola pertencem à ordem *Mononegavirales*, família *Filoviridae* e género *Ebolavirus*. As cinco espécies existentes são *Bundibugyo ebolavirus*, *Reston ebolavirus*, *Sudan ebolavirus*, *Tai Forest ebolavirus* e *Zaire ebolavirus*.

## 2.2 – Estrutura Viral

O vírus Ébola é um vírus cilíndrico flexível com um diâmetro constante de 80 nm e um comprimento variável entre 800 a 14000 nm. É um vírus envelopado com genoma de RNA de cadeia simples de polaridade negativa não segmentado ((-)ssRNA – negative-sense single-stranded RNA)<sup>1,2</sup>.

O genoma do vírus Ébola tem cerca de 19 kb e é composto por sete genes dispostos da extremidade 3' à 5' da seguinte forma: NP-VP35-VP40-GP-VP30-VP24-L.

Estes genes codificam a nucleoproteína (NP), glicoproteína (GP), RNA polimerase RNA dependente (L), e quatro proteínas estruturais VP24, VP30, VP35 e VP40.

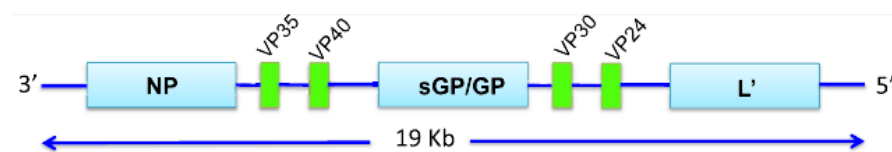


Figura 1 - Organização do genoma do vírus Ébola<sup>7</sup>.

O vírus expressa ainda uma proteína adicional através de edição do RNA transcrito do gene GP, uma glicoproteína menor (sGP) que é produzida e secretada extracelularmente<sup>2</sup>. O gene GP codifica pelo menos três glicoproteínas diferentes, cuja expressão é controlada pela edição do RNA transcrito no sítio do gene que codifica 7 resíduos de adenosina. Quando a polimerase viral encontra o local de edição durante a transcrição, em 70-80% dos casos é produzido um transcrito primário que leva à formação de sGP, a glicoproteína GP solúvel. Em apenas 20% dos transcritos, um único resíduo de adenosina não modificado é inserido no RNA mensageiro dando origem a um ORF que irá expressar a glicoproteína estrutural GP. Adicionalmente pode ser expressa a ssGP, small soluble glycoprotein<sup>3</sup>.

As sete proteínas são transcritas pela enzima viral RNA-polimerase RNA-dependente presente no virião. Duas dessas proteínas, a glicoproteína GP e a proteína da matriz VP40, são componentes essenciais do envelope viral que rodeia a nucleocápside<sup>4</sup>.

O RNA viral está inserido num complexo helicoidal e está associado a quatro proteínas virais, a nucleoproteína NP que envolve o RNA viral, a RNA polimerase RNA dependente L, a VP35 que é o cofator da polimerase, e o fator de transcrição VP30. As quatro proteínas da nucleocápside são necessárias para a replicação e transcrição do genoma viral<sup>4,5</sup>.

A VP40, proteína da matriz do vírus Ébola, é uma proteína de membrana que regula o processo de brotamento e saída da membrana plasmática da célula hospedeira e

consequente libertação de partículas virais. A VP40 e a VP24 compõe a camada que está abaixo do envelope viral, fazendo a ligação entre a glicoproteína incorporada no envelope e a nucleocápside<sup>5</sup>.

A proteína VP24 está envolvida no processo de formação e montagem da nucleocápside, contribui na regulação da transcrição e replicação viral e inibe a sinalização de interferão<sup>5,6</sup>.

Os Filovírus possuem apenas uma proteína de superfície, a glicoproteína transmembranar GP que medeia a ligação, entrada e fusão (de membranas) com as células alvo<sup>5</sup>.

A proteína adicional não estrutural, a forma solúvel da glicoproteína, sGP, não é incorporada em partículas virais, mas é secretada por células infetadas<sup>5</sup>.

### **2.3 – Replicação viral**

Numa infecção viral, o que determina se uma célula será ou não um alvo para infecção é a presença ou ausência de recetores reconhecidos pela proteína de adsorção viral<sup>5</sup>.

O vírus replica inicialmente em células dendríticas, macrófagos e monócitos. Depois é gradualmente disseminado aos gânglios linfáticos, fígado e baço, e mais tarde a outros órgãos com recetores para as GP, como nas glândulas suprarrenais.

O processo de adsorção consiste na ligação de uma proteína de superfície do virião, que no caso do vírus ébola é uma subunidade da glicoproteína GP a um recetor presente na superfície da célula hospedeira. O vírus Ébola consegue reconhecer e ligar-se a diferentes tipos de recetores expressos à superfície celular como o recetor de ácido fólico, lectina tipo C, integrinas, Tim-I e TAM<sup>5</sup>.

A proteína viral GP é muito glicosilada e tem na sua estrutura um conjunto de N- e O-glicanos, que dependendo da sua estrutura específica, podem ser reconhecidos por diferentes tipos de Lectinas tipo C. Isto inclui os recetores ASGR nos hepatócitos, DC-SIGN e hMGL nos macrófagos e células dendríticas imaturas, e L-SIGN e LSECtin nas células endoteliais do fígado e nódulos linfáticos<sup>5</sup>.

Outro grupo de proteínas envolvidas na entrada de filovírus são as Integrinas  $\beta_1$ , que estão envolvidas no processo de regulação da catepsina endossomal necessária à fase de fusão viral<sup>5</sup>.

Após a ligação a recetores celulares, ocorre a fase de penetração do vírus através de um processo de macropinocitose, que está dependente da ação de proteínas da superfície celular como TIM-1 e Axl<sup>6</sup>.

Para que o vírus Ébola penetre na célula hospedeira através de macropinocitose, este recorre a uma mimetização de apoptose de modo a suprimir respostas inflamatórias. A fosfatidilserina (PS) é um complexo fosfolipídico que se encontra normalmente no folheto interno da membrana plasmática das células, mas quando ocorre morte celular PS é exposto no folheto externo da membrana. Quando ocorre a exposição da PS desencadeia-se um alerta às células vizinhas, incluindo células fagocitárias para iniciarem o processo de destruição celular via macropinocitose mediada por TIM-1 e Axl, não induzindo a resposta inflamatória. Assim, o vírus Ébola recorre a este método em que mimetiza ser um corpo apoptótico e expõe a fosfatidilserina, desencadeando assim um sinal para que as células fagocitárias o internalizem via macropinocitose<sup>6</sup>.

Assim que a partícula viral é integrada num endossoma, é transportada para um compartimento de baixo pH onde a glicoproteína GP presente no envelope viral é clivada por proteases de cisteína endossomais, catepsina B e L. A clivagem da glicoproteína GP leva à remoção de uma região muito glicosilada, expondo assim a região específica da GP que liga ao recetor Niemann-Pick C1 (NPC1) do endossoma. A ligação a este recetor endossomal desencadeia o processo de fusão do envelope viral e da membrana celular<sup>5,6</sup>.

De seguida, e encontrando-se agora a partícula viral no citoplasma da célula hospedeira, dá-se a descapsidação e o anti genoma é transcrito em RNAm através das proteínas virais associadas à nucleocápside. A transcrição do genoma é mediada através de um complexo formado pela VP30, VP35 e polimerase viral L ligado ao genoma envolvido pelas proteínas NP<sup>5,6</sup>.

Paralelamente ocorre a expressão e secreção de sGP a nível extracelular, que funciona como atração para os anticorpos formados contra a GP, complexando-os.

O vírus Ébola é um vírus que completa todo o seu ciclo no citoplasma da célula hospedeira, sem nunca entrar no núcleo<sup>1</sup>.

A fosforilação da VP30 leva à sua dissociação do complexo VP35/L, e serve como sinal para a mudança de transcrição para replicação<sup>6</sup>.

Dá-se então a replicação e o genoma resultante é envolvido pelas proteínas NP, VP24, VP30 e VP35. De seguida a proteína L interage com VP35 e associa-se também ao complexo

previamente formado. Por último, ocorre a associação com as proteínas da matriz VP40, e as partículas virais são libertadas através das regiões de *lipid raft* da membrana plasmática<sup>6</sup>.

## 2.4 – Escape a mecanismos anti-virais do hospedeiro

A nível intracelular e no que diz respeito à imunidade inata, o vírus Ébola antagoniza inicialmente a resposta do interferão alfa e beta utilizando vários componentes do vírus. A VP24 dessensibiliza as células para os efeitos do interferão pelo bloqueio da homodimerização de JAK-1 e heterodimerização de TYK-2, o que leva a que não haja localização nuclear destes fatores de transcrição e assim diminui/inibe a transcrição dos genes estimuladores de interferão. A VP35 liga a RNA de dupla cadeia e impede o seu reconhecimento por RIG-I/MDA-5 (recetores de reconhecimento de padrões inatos que detetam RNA citosólico estrangeiro). VP35 e VP30 bloqueiam a resposta de RNAi contra a expressão dos genes virais<sup>7</sup>.

A inibição do interferão tipo I leva a um defeito na maturação de células dendríticas e a uma diminuição da ativação e proliferação de células T, assim como apoptose que levará a linfopenia, uma característica chave da doença provocada pelo Ébola.

Enquanto as respostas imunes inatas transitórias mediadas por citocinas são benéficas para o hospedeiro, o mesmo espectro de citocinas em grandes quantidades e por período de tempo prolongado leva à desregulação de mecanismos homeostáticos, destruição dos tecidos do hospedeiro e facilita a replicação microbiana descontrolada. Ou seja, estamos perante outro mecanismo viral que desregula o sistema imune do hospedeiro através da libertação exagerada de citocinas<sup>7</sup>.

As glicoproteínas presentes no envelope viral têm um importante papel no escape à resposta imune humoral. A glicosilação não uniforme das GP dirige os anticorpos não neutralizantes para regiões virais diferentes, mas não para regiões essenciais ao ciclo de replicação viral como por exemplo os recetores de ligação<sup>8</sup>.

Como referido anteriormente, também as sGP têm o seu papel no escape à imunidade humoral do hospedeiro, uma vez que estas são secretadas extracelularmente e complexam anticorpos impedindo-os de se ligarem à partícula viral.

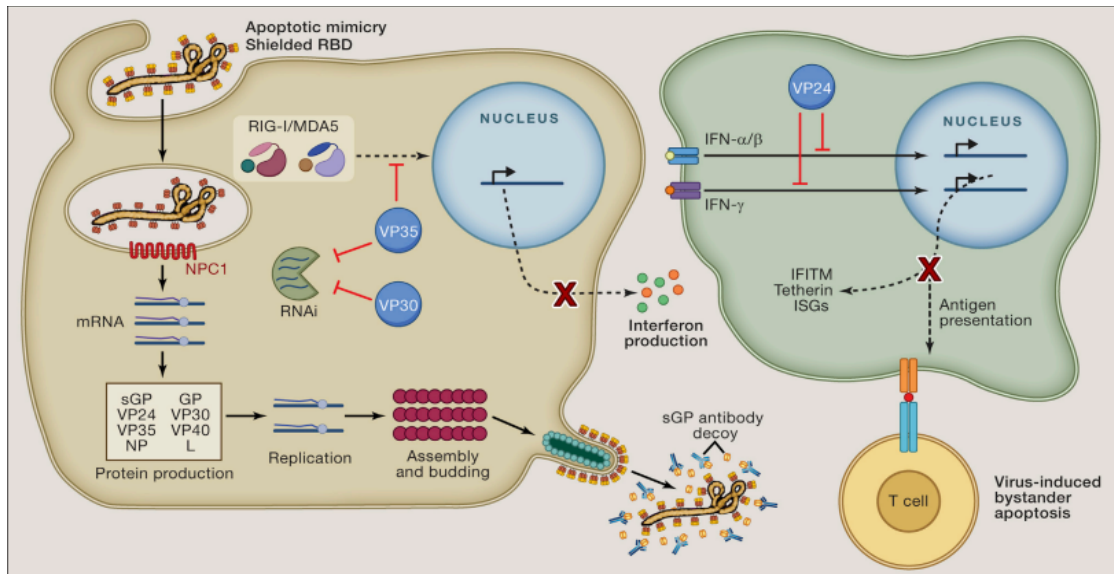


Figura 2 - Ciclo de vida do vírus Ébola e mecanismos de escape à resposta imune do hospedeiro<sup>6</sup>.

## 2.5 – Ciclo de infecção

Os vírus da família *Filoviridae* são vírus com a capacidade de infetar diferentes tipos de células.

O Vírus Ébola entra no organismo através de membranas mucosas, fissuras na pele ou pela via parentérica, após contacto com fluidos contaminados.

O vírus replica inicialmente em células dendríticas, macrófagos e monócitos, provocando posteriormente a sua necrose e libertação de grandes quantidades de novas partículas virais no fluido extracelular<sup>9</sup>.

O vírus Ébola induz nos macrófagos e monócitos a libertação de grande quantidade de substâncias proinflamatórias (interleucinas  $1\beta$ , IL-6, proteína quimiotática de macrófagos e óxido nítrico), e a síntese de TNF-  $\alpha$  que vai induzir febre, um dos primeiros sintomas da doença<sup>8</sup>.

As células dendríticas, como referido anteriormente são um dos alvos primários do vírus, e são estas as células responsáveis pelo início da resposta imune adaptativa. Vários estudos demonstram que as células dendríticas infetadas não sofrem maturação, pelo que se tornam incapazes de apresentar antígenos aos linfócitos *naive*, o que explica potencialmente o porquê de doentes morrerem da doença provocada pelo vírus ébola sem que desenvolvam anticorpos contra o vírus.

Os linfócitos não são infetados diretamente pelo vírus Ébola, e a sua diminuição, principalmente dos linfócitos T  $CD4^+$  e  $CD8^+$ , está relacionada com a apoptose (provocada

pelo TNF-  $\alpha$  libertado pelos macrófagos infetados), com a alteração das células dendríticas pelo vírus, com a interação das GP do vírus com os linfócitos e ainda pela indução dos mediadores inflamatórios<sup>8</sup>.

A nível vascular, o óxido nítrico e o TNF- $\alpha$ , assim como outros mediadores, estão envolvidos na vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular e perda da função endotelial. Outros mediadores induzem a expressão de moléculas de adesão na superfície endotelial que permitem a invasão por neutrófilos e macrófagos<sup>8</sup>.

Por outro lado, a libertação do fator tecidual pelos macrófagos infetados desencadeia a via a cascata de coagulação extrínseca. Também as citocinas proinflamatórias estimulam os macrófagos a produzir fator tecidual, o que explica o rápido desenvolvimento e gravidade da coagulopatia na doença provocada pelo vírus Ébola.

Após a replicação inicial nas células anteriormente referidas e graças à mobilidade das mesmas, o vírus é gradualmente disseminado aos gânglios linfáticos, fígado e baço, e mais tarde a outros órgãos com recetores para as GP, como glândulas suprarrenais. A rápida disseminação sistémica é facilitada pela supressão das respostas do interferão tipo I induzida pelo vírus Ébola<sup>8</sup>.

A coagulação intravascular disseminada, assim como a insuficiência hepática aguda, predispõe os doentes a complicações hemorrágicas. A lesão das glândulas suprarrenais origina uma perda de sódio e hipotensão secundária<sup>8</sup>.

Outro sintoma característico da infeção é a presença de vómitos e diarreia que levam a uma perda drástica de volume, hipotensão e choque hipovolémico. No entanto, ainda não é claro a causa desta disfunção, se é causada pela infeção viral do trato gastrointestinal, se é induzida pelas citocinas circulantes, ou se é provocada por ambos.

### **3 – Ébola: infeção viral**

#### **3.1 – Transmissão do vírus**

A doença causada pelo vírus Ébola é uma zoonose, podendo a transmissão viral ocorrer entre animais e humanos e também apenas entre humanos<sup>10</sup>.

É uma doença que raramente circula nos humanos e que afeta principalmente morcegos, primatas, antílopes e outros. Os hospedeiros naturais parecem ser várias espécies de

morcegos frugívoros do género *Pteropodidae* (*Hypsignathus monstrosus*, *Epomops franqueti* e *Myonycteris torquata*)<sup>8</sup>.

O ser humano pode ser infetado através do contacto com a carne ou fluidos corporais de um animal infetado, vivo ou morto.

O vírus é capaz de atravessar a barreira cutânea e mucosa, especialmente se não estiver intacta, e a transmissão pessoa a pessoa ocorre através de contacto direto com sangue, fluidos corporais, ou pele de doentes, incluindo aqueles que morreram da infeção, ou por transmissão indireta pelo contacto com materiais contaminados<sup>8</sup>.

É importante realçar que os doentes só são contagiosos a partir do momento em que desenvolvem sintomas da doença, ou seja enquanto estão no período de incubação não há perigo de contágio<sup>8</sup>.

Na fase aguda da doença, o vírus pode ser encontrado na saliva, pele, suor, lágrimas, fezes, leite materno e sangue, e na fase de convalescença no leite e sémen, até 72 dias após resolução da infeção. A presença do vírus na saliva é frequente, mas este é rapidamente inativado pelas enzimas salivares. De acordo com a Organização Mundial de Saúde, os fluidos corporais mais infecciosos são o sangue, fezes e vômito<sup>8</sup>.

Para adquirir a doença é necessário um contacto direto e estreito, e não estão documentados casos em que a infeção tenha sido adquirida através da via aérea ou através de vetores animais. O risco de contágio é maior nos últimos dias da doença, quando a virémia está mais elevada e os doentes vomitam, têm diarreia e sangram<sup>8</sup>.

O cadáver é também uma importante fonte de infeção, uma vez que o vírus permanece no organismo alguns dias após a morte. Os rituais funerários tradicionais em África geralmente envolvem contato próximo com o cadáver, o que facilita a propagação do vírus Ébola. Dados epidemiológicos revelam que 68% dos casos na Guiné durante o surto de 2014 foram associados aos funerais<sup>11</sup>.

O vírus Ébola pode sobreviver em material líquido ou seco durante muitos dias. É inativado por radiação gama, aquecimento durante 60 minutos a 60°C, através de fervura durante 5 minutos, e é ainda sensível ao hipoclorito de sódio (lixívia) e outros desinfetantes. O vírus Ébola não é inativado por congelamento ou refrigeração.



## **3.2 – Manifestações clínicas**

### **3.2.1 - Período de incubação**

Os sintomas da infecção pelo vírus Ébola surgem entre 2 a 21 dias após a exposição ao agente viral, sendo em média o período de incubação de 6 a 12 dias<sup>12</sup>.

Até ao momento em que se desenvolvem os primeiros sintomas não há evidência que haja possibilidade de contágio, ou seja as pessoas assintomáticas no período de incubação não contaminam outros indivíduos.

### **3.2.2 - Desenvolvimento de sinais e sintomas**

Após o período de incubação, quando aparecem os primeiros sintomas, o doente torna-se infeccioso e há então perigo de contágio. A partir deste momento é extremamente importante que se tomem medidas de prevenção e segurança, uma vez que se trata de um vírus de nível de segurança BSL-4 (*Biosafety level 4*).

Inicialmente a infecção pelo vírus Ébola provoca sintomas semelhantes a uma síndrome gripal (febre, arrepios, mialgia, mal estar geral, dores de cabeça e fadiga), assim como vômitos, náuseas e diarreia. Após um início súbito destes sintomas a doença pode evoluir rapidamente para um estado grave com um declínio clínico rápido<sup>14</sup>.

Entre o quinto e sétimo dia pode desenvolver-se exantema maculopapular, embora não tenha sido frequente no surto de 2014-2015<sup>13-15</sup>.

Os sintomas gastrointestinais são muito frequentes, ocorrendo em 65% dos infetados no surto atual. As náuseas, vômitos e diarreia induzem uma grande perda de fluidos, originando desidratação, hipotensão e choque hipovolémico<sup>16</sup>.

Esta doença já foi classificada como uma febre hemorrágica, mas atualmente esta denominação já não é utilizada uma vez que a hemorragia é um sintoma mais raro, entre 18 a 20% no surto de 2014-2015. Hemorragias graves são características da fase final da doença.

Podem também surgir sintomas a nível neurológico, geralmente 10 dias após início da infecção, como alteração do nível de consciência e rigidez no pescoço ou convulsões, que se assemelham a um quadro de meningite<sup>17</sup>.

Pode ainda surgir tosse seca, hiperemia conjuntival, soluços e aborto espontâneo em mulheres grávidas<sup>15,18</sup>.

### **3.2.3 - Evolução da doença**

A doença provocada pelo vírus Ébola está associada a taxas de mortalidade entre 50 e 90%, ou seja, na grande maioria dos casos a doença evolui para morte, mas também há casos em que a evolução é favorável<sup>14</sup>.

Na maioria dos casos em que os doentes sobrevivem, estes começam a melhorar a partir da segunda semana da doença. Por outro lado, quando a doença é fatal, esta é caracterizada por sinais clínicos mais graves e sintomas precoces durante a infeção, progredindo para falência de múltiplos órgãos e morte durante a segunda semana, aproximadamente<sup>12</sup>.

O período de convalescença da doença por vírus Ébola é prolongado e é caracterizado por fraqueza, fadiga e dificuldade em recuperar o peso perdido no início da infeção. A queda de cabelo e extensa descamação da pele são frequentes quando ocorre necrose de glândulas sudoríparas e outras estruturas dérmicas que estavam infetadas pelo vírus, e podem ocorrer também artralgias devido à formação de complexos antígeno-anticorpo durante a recuperação<sup>19</sup>.

### **3.2.4 - Dados laboratoriais**

Os sintomas clínicos e os dados laboratoriais confirmam o envolvimento de múltiplos órgãos na infeção. As alterações hematológicas mais comuns são leucopenia e linfopenia, com um aumento do número de neutrófilos e das enzimas hepáticas (causada pela necrose hepática multifocal). Com a progressão da doença, os doentes desenvolvem trombocitopenia, aumento do tempo de protrombina e aumento do tempo de tromboplastina parcial ativada. O aumento no tempo de coagulação em conjunto com o aumento observado dos produtos de degradação de fibrina sugerem uma coagulopatia extensa devido à coagulação intravascular disseminada, o que contribui para a falência de múltiplos órgãos<sup>14</sup>.

A nível renal, a proteinúria é um achado comum, e a insuficiência renal com níveis elevados de ureia e creatinina surge com a progressão da doença. Quando estes resultados ocorrem no início da doença, eles são em grande parte devido à perda excessiva de líquidos por vômitos e diarreia sem reposição de volume adequada. Também podem surgir distúrbios hidroeletrólíticos significativos em consequência das perdas de fluidos<sup>16</sup>.

Os casos fatais de doença causada por vírus Ébola ocorrem geralmente entre 6 e 16 dias após o início dos sintomas. A morte ocorre devido a choque, hemorragia e falência de

múltiplos órgãos e é caracterizada por elevada carga viral no sangue, um aumento acentuado no número de neutrófilos no sangue, uma queda em linfócitos e plaquetas, e coagulopatia<sup>14,20</sup>.

### 3.3 – Diagnóstico

Estão disponíveis vários métodos de diagnóstico para detetar filovírus, incluindo reação em cadeia da polimerase associada a transcriptase reversa (RT-PCR), serologia, isolamento viral, microscopia eletrónica, histopatologia e imuno-histoquímica. Por causa dos riscos associados com a biossegurança dos filovírus, estes ensaios apenas podem ser realizados em alguns laboratórios especializados e com um nível de Biossegurança 4 em todo o mundo<sup>20</sup>.

O vírus Ébola é geralmente detetável em amostras de sangue através da reação em cadeia da polimerase associada a transcriptase reversa (RT-PCR), num prazo de dois ou três dias após o início dos sintomas. Pode ser necessária a repetição do teste para indivíduos com sintomas há menos de três dias. De acordo com as *guidelines* do CDC, para considerar verdadeiro um resultado de teste negativo, é necessário que esse tenha sido efetuado após 72 horas do início dos sintomas<sup>21</sup>.

Devido à rapidez no desenvolvimento da fase aguda da doença, a serologia não desempenha um papel importante no diagnóstico da doença, mas pode ser bastante útil em estudos epidemiológicos e de vigilância.

Em geral, os anticorpos IgM podem ser detetados dois dias após os primeiros sintomas, e desaparecem 30-168 dias depois. Os anticorpos IgG normalmente são detetados entre 6 e 18 dias após o

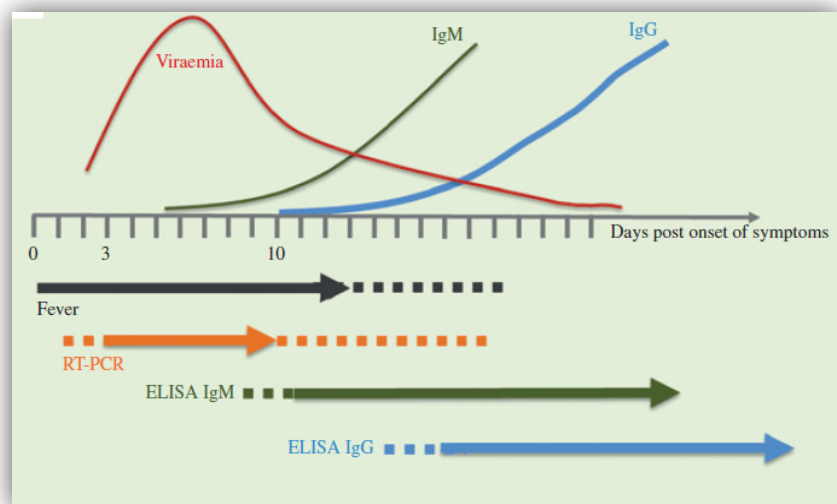


Figura 3 - Diagnóstico laboratorial da infecção por vírus Ébola<sup>20</sup>.

aparecimento dos sintomas, e mantêm-se detetáveis por três a cinco anos. O perfil dos anticorpos em doentes com curso da doença fatal é consideravelmente distinto daqueles que sobrevivem. Esta diferença pode servir como marcador de prognóstico da evolução da doença, uma vez que há diferenças notáveis em caso de sobrevivência e morte, verificando-

se um pior prognóstico quando a resposta de anticorpos é muito baixa ou mesmo ausente<sup>14,20</sup>.

É essencial que o diagnóstico da doença seja feito precocemente para que possam ser iniciadas as medidas clínicas de suporte para evitar o desenvolvimento de choque irreversível, e para instituir procedimentos que permitam controlar a infecção viral<sup>5</sup>.

É importante perguntar a doentes que apresentam febre e/ou outros sintomas consistentes com a doença do ébola se viajaram para áreas endémicas ou se tiveram contacto com doentes no prazo de 21 dias antes do início dos sintomas<sup>5</sup>.

No diagnóstico diferencial de um doente com sintomas semelhantes aos da gripe, a doença causada pelo vírus Ébola pode ser considerada se houver circunstâncias ou fatores de risco para tal. No cenário da atual epidemia de 2014-2015 há um nível elevado de suspeita, tanto em residentes locais como em profissionais de saúde que regressaram da África Ocidental para os seus países de origem. No entanto, deve-se ter em conta que o início súbito de uma doença febril numa pessoa que vive ou esteve recentemente na África Central e Ocidental, pode resultar de uma variedade de doenças infecciosas locais, incluindo a malária e outras causas de febre, como Lassa e vírus de Marburg.

### **3.4 – Tratamento**

O tratamento de doentes com ébola requer uma abordagem multidisciplinar, sendo a base do tratamento o reconhecimento precoce da infecção, juntamente com o isolamento eficaz e com a melhor terapêutica de suporte disponível em ambiente hospitalar<sup>10</sup>.

Todos os prestadores de cuidados de saúde envolvidos no atendimento de indivíduos infetados ou potencialmente infetados devem tomar precauções para controlo da infecção, o que inclui o uso de equipamentos de proteção individual<sup>22</sup>.

Atualmente não existem medicamentos aprovados para o tratamento ou profilaxia da doença causada pelo vírus ébola. No entanto, a magnitude da epidemia na África Ocidental levou à descoberta de novas aplicações de medicamentos já aprovados para utilização em seres humanos ou considerados como seguros em ensaios clínicos de fase II e III, ou seja, conduziu à descoberta das suas potenciais aplicações como agentes antivirais<sup>23</sup>.

As terapias e vacinas desenvolvidas especificamente para o vírus Ébola encontram-se em fases iniciais de investigação não tendo sido avaliada a respetiva segurança e eficácia em humanos. Não existe ainda evidência baseada em ensaios clínicos, logo há a possibilidade de

reações adversas que comprometam a segurança da utilização em humanos. No entanto, até à data, e tendo em conta a evolução do surto por vírus Ébola, a OMS considera que os possíveis benefícios superem os riscos para o indivíduo e comunidades afetadas. É de realçar que as quantidades disponíveis dos medicamentos potencialmente utilizáveis são extremamente limitadas<sup>24</sup>.

Assim, as decisões sobre se deve ou não usar a terapia antiviral, a escolha da terapêutica adequada e do respetivo tempo de administração devem ser tomadas em conjunto com um agente de saúde pública.

A primeira fase da assistência a um doente consiste na terapia de suporte, que deve ser adequada à sintomatologia do doente e às suas maiores carências e necessidades.

No que diz respeito à terapêutica antiviral utilizada atualmente, podemos distinguir três grupos de fármacos: agentes antivirais com atividade estudada para determinado vírus que podem atuar também no vírus ébola (favipiravir e brincidofovir); agentes antivirais específicos para o vírus ébola ainda na fase de investigação (ZMapp, TKM-Ebola, AVI- 7537, BCX4430); plasma convalescente; outros agentes (amiodarona, clomifeno, cloroquina, interferão)<sup>10</sup>.

Por fim, pode ser necessária a adição de uma terapia antimicrobiana se surgirem infeções bacterianas concomitantes, como é um exemplo frequente a sepsis bacteriana<sup>25</sup>.

### **3.4.1 - Terapêutica de suporte**

Vómitos e diarreia são sintomas comuns que levam normalmente o doente a estados de desidratação e hipovolémia. Assim sendo, os aspetos mais importantes da terapêutica de suporte envolvem a prevenção da depleção do volume intravascular, corrigindo alterações eletrolíticas profundas e evitando as complicações de choque hipovolémico. A rehidratação pode ser feita oralmente ou via intravenosa, dependendo dos dados clínicos e da quantidade de perda de fluídos<sup>10,25</sup>.

Para além da reposição de fluídos pode ainda ser necessária alguma terapêutica para controlo da sintomatologia, como assistência respiratória, utilização de analgésicos, antipiréticos e antieméticos, ou ainda nutrição parentérica e terapia renal<sup>10</sup>.

### 3.4.2 - Favipiravir

Favipiravir, ou T-705, é um agente antiviral que foi aprovado no Japão para o tratamento do vírus Influenza e que está atualmente em ensaios clínicos de fase III nos Estados Unidos e outros países<sup>26</sup>.

Após a sua conversão a T-705-ribofuranosil-50-trifosfato por enzimas da célula hospedeira, atua como um análogo de nucleósido que inibe a RNA polimerase-RNA dependente viral ou provoca uma mutagénese letal aquando da sua incorporação nas cadeias de RNA<sup>26</sup>.

A utilização de Favipiravir em seres humanos com a doença do vírus Ébola é suportada pela sua capacidade de evitar a morte de murganhos infetados com o vírus. Favipiravir é o primeiro agente terapêutico eficaz para infeção avançada por *Zaire ebolavirus* em modelos animais. O fármaco reduz a virémia, melhora os sinais clínicos e bioquímicos da doença, e impede a evolução fatal em 100% dos animais, se o tratamento for iniciado até 6 dias após a infeção<sup>26</sup>.

### 3.4.3 - Brincidofovir

Brincidofovir, ou CMX001, é um fármaco antiviral que atua como análogo de nucleótido que está a ser desenvolvido para o tratamento de poxvírus, citomegalovírus, e outras infeções por vírus de DNA. O fármaco está atualmente em ensaios clínicos de fase III<sup>27</sup>.

O alvo principal deste fármaco seriam apenas os vírus de DNA, no entanto o fabricante constatou que este tinha atividade *in vitro* contra o vírus ébola, um vírus de RNA.

Brincidofovir foi produzido para mimetizar a citidina e posteriormente inibir as polimerases de DNA viral, e o seu mecanismo de ação no vírus Ébola, um vírus de RNA, ainda não é muito claro. Este fármaco tem demonstrado ser seguro quando administrado em humanos, o que permitiu a sua administração a doente com infeção pelo vírus Ébola<sup>28</sup>.

### 3.4.4 - ZMapp

ZMapp é um agente antiviral desenvolvido especificamente para o vírus Ébola que consiste na combinação de anticorpos monoclonais humanizados. Este agente foi desenvolvido para ser expresso por plantas de tabaco.

Vários estudos laboratoriais demonstraram que os anticorpos monoclonais dirigidos a epítomos da glicoproteína de superfície do vírus ébola podem proteger roedores e primatas

não humanos contra a infecção pelo vírus Ébola. Surgiu então a combinação de três anticorpos monoclonais, ZMapp, que posteriormente impediram a morte de macacos infetados pelo vírus, mesmo quando o tratamento foi iniciado depois do aparecimento da sintomatologia<sup>29</sup>. ZMapp demonstrou a sua eficácia quando administrado 24-48 horas após infecção, mas mais recentemente um estudo mostrou que este agente antiviral pode ser utilizado até cinco dias após infecção<sup>10</sup>.

Atualmente ainda não existem estudos de segurança e eficácia no Homem, no entanto, foram disponibilizadas e utilizadas algumas doses do fármaco em doentes infetados no surto de 2014-2015. Cerca de 7 pessoas foram submetidas a tratamento com ZMapp e apenas uma morreu. Apesar do seu potencial antiviral, os números são pequenos demais para se conseguir tirar conclusões acerca da segurança e eficácia do medicamento<sup>10</sup>.

#### **3.4.5 - TKM – Ebola**

O agente antiviral TKM-Ebola é uma nanopartícula lipídica com pequenas sequências de RNA de interferência que se ligam a sequências específicas de RNAm. Esta molécula de RNAi tem como alvo três genes do vírus Ébola, e já demonstrou a sua eficácia em primatas não humanos e roedores de laboratório. Após administração de TKM-Ebola a primatas não humanos no período de uma hora após infecção, cerca de 86% da população experimental sobreviveu e nenhum primata do grupo de controlo sobreviveu. Um ensaio de Fase I de TKM-Ebola que começou em janeiro de 2014, foi suspenso em julho devido à ocorrência de febre em alguns doentes. Após reavaliação e alteração de restrições ao uso do fármaco experimental por parte da FDA, o ensaio clínico prosseguiu<sup>8,30</sup>.

#### **3.4.6 - AVI-7537**

O fármaco AVI-7537 é constituído por oligómeros morfolino fosfodiamidato direcionados contra o gene VP24. São oligómeros antisense sintéticos que têm como alvo uma sequência específica de RNAmensageiro onde posteriormente irão suprimir a tradução por impedimento estérico<sup>31</sup>.

Em estudo com macacos, foi observada uma taxa de sobrevivência de 60-80% quando administrado à data de infecção. A tolerância em humanos foi demonstrada em estudos numa fase inicial. Até ao momento, ainda não foi reportada a administração destes agentes aos doentes com ébola<sup>24</sup>.

### **3.4.7 - BCX-4430**

BCX4430 é um análogo sintético de adenosina que inibe a infecção de filovírus em células humanas. BCX4430 é convertido na sua forma ativa trifosfatada, e após clivagem do pirofosfato, o BCX4430-monofosfato é incorporado na cadeia crescente de RNA induzindo a terminação prematura da cadeia<sup>32</sup>.

BCX4430 é ativo in vitro contra o vírus Ébola e vários vírus de RNA de polaridade negativa. A administração de BCX4430 quatro horas antes da infecção experimental de ratinhos com o vírus Ébola, duas vezes ao dia, via intramuscular e oral, resultou em taxas de sobrevivência de 100% e 90%, respetivamente<sup>33</sup>.

### **3.4.8 - Plasma convalescente ou sangue total**

A utilização de plasma de doentes curados da doença por vírus Ébola (dadores convalescentes), como fonte de anticorpos neutralizantes em doentes infetados agudos, é uma terapêutica recentemente utilizada, tendo a Organização Mundial de Saúde elaborado um guia sobre este tipo de dádivas dirigidas ao tratamento empírico dos doentes infetados por Ébola<sup>24</sup>.

Após confirmação de caso de doença por vírus Ébola, caso a equipa clínica entenda ser clinicamente justificado o Hospital de Referência poderá solicitar o acesso a diferentes opções terapêuticas: plasma convalescente para transfusão, ou medicamentos potencialmente utilizáveis nesta doença<sup>24</sup>.

### **3.4.9 - Outros Agentes**

Os interferões também podem ser utilizados como medida terapêutica, uma vez que atuam como imunomoduladores, induzem um estado antiviral em células expostas e regulam o sistema imunitário. No entanto, num estudo realizado com macacos, foi observado um aumento do tempo de vida sem aumento da taxa de sobrevivência<sup>24</sup>.

A cloroquina é um fármaco antimalárico que demonstra atividade contra o vírus Ébola. Pensa-se que esta molécula tenha afinidade contra a VP35. VP35 é o cofator da RNA polimerase RNA dependente, e ainda participa na evasão do vírus Ébola à resposta imunitária, através do bloqueio da ativação do fator de regulação do interferão (necessário à indução dos interferões alfa e beta). Assim, tendo afinidade para a VP35, vai bloqueá-la e consequentemente permite um aumento na resposta imune do hospedeiro contra o vírus<sup>28</sup>.



A Cloroquina induz ainda a alcalinização de endossomas e assim impede a clivagem dependente do pH ácido da glicoproteína GP por proteases de catepsina B e L.

O recetor NPC1 é um recetor celular necessário para a fusão da membrana viral com a membrana endossomal. O clomifeno atua como inibidor destes recetores, logo vai impedir a entrada do vírus Ébola na célula e consequentemente inibe a infeção viral<sup>34</sup>.

A amiodarona é outro fármaco anfifílico catiónico que interfere com a entrada do vírus nas células, por mecanismos ainda não completamente esclarecidos.

#### 4 – Prevenção

A prevenção primária da infeção por vírus ébola é muito difícil até que seja desenvolvida uma vacina eficaz. É muito importante que não haja contacto com animais selvagens mortos ou doentes<sup>1</sup>.

Para evitar a propagação do vírus Ébola devem ser implementadas várias medidas simultaneamente.

Após o diagnóstico de um caso de doença por vírus Ébola, todos os casos suspeitos ou comprovados devem ser imediatamente isolados, sendo crucial para reduzir o contacto com outros doentes e profissionais de saúde. As medidas de isolamento devem manter-se até o doente apresentar um resultado negativo<sup>10</sup>. As medidas de isolamento devem ser rigorosamente seguidas por todos mas sem prejuízo de assistência necessária ao doente.

Os profissionais de saúde que cuidam de doentes com a infeção pelo vírus Ébola devem seguir as *guidelines* e recomendações do Centers for Disease Control and Prevention e da Organização Mundial de Saúde. As recomendações incluem, para além do isolamento, a higiene adequada das mãos, o uso de precauções de contato e de formação de gotículas e o uso correto de equipamentos de proteção individual (EPI)<sup>35</sup>. O tipo de EPI utilizado e a sua cuidadosa colocação e remoção são essenciais para prevenir a transmissão nosocomial de vírus Ébola.

Para o controlo da infeção a nível ambiental também existem normas, como por exemplo no controlo dos resíduos associados ao Ébola. Qualquer resíduo associado ao vírus deve ser incinerado, autoclavado ou de outra forma inativado para deixar de ser considerado um risco para a saúde pública<sup>36</sup>.

A Organização Mundial de Saúde e o CDC consideram ainda relevante a monitorização e restrição de viagem e transporte de pessoas assintomáticas que tenham sido expostas ao vírus. Esta monitorização deve continuar por 21 dias após a última possibilidade de exposição ao vírus<sup>37</sup>.

É ainda importante reforçar que o vírus pode ser transmitido através do contacto próximo entre uma mãe infetada e os filhos, pelo que se recomenda que em caso de doença ou suspeita, os bebés recebam assistência adequada e nutrição de outras formas. O vírus ébola já foi encontrado no leite materno, no entanto ainda não é claro se o mesmo se pode transmitir por esta via<sup>37</sup>.

Uma vez que o vírus Ébola pode permanecer por longos períodos em certos fluidos corporais (urina, sémen, secreções vaginais, entre outros) é aconselhável que haja abstinência da atividade sexual, ou utilização de métodos contraceptivos de barreira. Ainda não é certo o período em que o vírus persiste no organismo nem o risco de transmissão por via sexual.

Como resultado de uma maior vigilância após o início do surto atual de Ébola, vários países foram capazes de isolar eficazmente os doentes infetados e assim evitar a disseminação da doença e ter um controlo local da situação. No entanto, nem todas as estratégias de isolamento foram bem sucedidas pelo que continua a ser importante e necessário o desenvolvimento de uma vacina eficaz<sup>38</sup>.

#### **4.1 – Vacinas experimentais**

O objetivo da vacinação é atingir a longo prazo, e de preferência para toda a vida, proteção contra infeção futura evitando assim elevadas taxas de morbilidade e mortalidade.

Até à data, pelo menos 15 vacinas estão a ser desenvolvidas (na América do Norte, Europa, Rússia e China), das quais se destacam duas que se encontram em fases mais avançadas de testes em humanos- VSV-EBOV e cAd3-EBOV.

A glicoproteína GP do vírus Ébola é a única proteína de superfície do vírus, e como tal é um alvo importante. Existem atualmente duas vacinas experimentais que codificam a glicoproteína da espécie *Zaire ebolavirus*. Uma das vacinas utiliza um adenovírus de símio, chimpanzé adenovírus de serótipo 3 (ChAd3-ZEBOV), e outra consiste numa vacina recombinante que recorre ao vírus da estomatite vesicular (VSV-EBOV).

Estudos realizados em voluntários saudáveis utilizam as vacinas cAd3-EBOV e VSV-EBOV que expressam a glicoproteína GP da espécie Zaire. Ambas são administradas em doses baixas e elevadas, e até agora demonstraram ser seguras e imunogénicas. Os efeitos adversos que surgiram incluem febre, artrite e alterações laboratoriais transitórias (por exemplo, hiperbilirrubinémia, tempo de tromboplastina parcial ativada aumentado)<sup>39</sup>.

#### **4.1.1 - Vacina cAd3-EBOV**

A vacina cAd3-EBOV é uma vacina recombinante de adenovírus de chimpanzé de serotipo 3 com replicação deficiente, ou seja, o vetor viral tem uma deleção de genes essenciais para a replicação. Assim o vetor vai permitir que se formem as proteínas de interesse mas não termina o ciclo de replicação, ou seja tem a vida útil limitada a um único ciclo de infeção e deste modo são eliminadas muitas preocupações em relação à segurança da vacina. No entanto, para que esta vacina alcance os níveis necessários sanguíneos da proteína de interesse, têm de ser administradas doses mais elevadas da mesma.

Este vetor de adenovírus tem sido considerado como seguro porque o vetor não termina o ciclo de replicação no hospedeiro humano, e promissor uma vez que a cAd3 já mostrou resultados positivos após ter protegido eficazmente 16 animais da infeção por vírus Ébola após vacinação única<sup>39</sup>.

Podemos ainda distinguir a vacina monovalente, apenas contra a espécie Zaire ebolavirus, e bivalente quando atua nas espécies Zaire ebolavirus e Sudan ebolavirus.

O desenvolvimento clínico desta vacina iniciou-se em 2011 e após submissão de dados a Food and Drugs Administration (FDA) em 2013, um ensaio clínico de fase I foi programado para o início do ano 2015. No entanto, em resposta ao surto emergente em maio de 2014 o início do ensaio clínico de fase I foi adiantado, e para tal há um trabalho em parceria com a FDA e uma condensação do cronograma padrão<sup>40</sup>.

#### **4.1.2 - Vacina VSV-EBOV**

A Vacina VSV-EBOV é uma vacina recombinante, com um vetor com capacidade de replicação. No vírus da estomatite vesicular, a glicoproteína VSV foi substituída com a GP do vírus Ébola, e o vírus resultante demonstrou proteção eficaz em primatas não humanos após vacinação única.

A vacinação induz a replicação de partículas virais semelhantes a VSV mas que expressa a glicoproteína de superfície de *Zaire ebolavirus*. Uma vez que este vírus tem capacidade de replicação, uma dose menor será mais eficaz do que em vírus com replicação deficiente.

Para além disso, a vacina foi testada em primatas não humanos infetados com o vírus da imunodeficiência símia humana (SHIV), e apesar do estado imunodeprimido dos animais a vacina não causou doença clínica, febre ou reação no local da vacinação. Este estudo demonstra a segurança e eficácia da vacina, e realça ainda a importante vantagem em relação a indivíduos imunocomprometidos uma vez que há elevada prevalência de HIV em áreas endémicas do vírus Ébola<sup>41</sup>.

Com base na experiência pré-clínica favorável, foi realizado um ensaio clínico de fase I, duplo-cego e controlado por placebo com estudo de várias doses em dois locais nos Estados Unidos<sup>42</sup>.

Esta vacina tem demonstrado ser adequada para administração pós exposição ao vírus, como medida profilática. A vacina foi administrada a dois prestadores de cuidados de saúde que tinham sofrido uma lesão percutânea com uma agulha que tinha entrado em contacto com uma luva contaminada. Ambos desenvolveram febre 12 horas após vacinação, e um dos trabalhadores apresentou leucopenia e trombocitopenia. Foram realizados testes de seguimento, incluindo RT-PCR que não encontrou nenhuma evidência do vírus Ébola no organismo dos indivíduos<sup>43</sup>.

## **5 – Epidemia de Ébola de 2014-2015**

No dia 23 março de 2014, a Sede Regional Africana da Organização Mundial de Saúde declarou a existência de uma epidemia da doença provocada pelo vírus Ébola na Guiné.

Perante a rápida evolução da epidemia e do crescente número de novos casos e mortes, no dia 8 de agosto a OMS declarou a epidemia como uma emergência de saúde pública de interesse internacional<sup>44</sup>.

De acordo com o relatório da OMS do dia 10 junho de 2015, existem casos de doença provocada por vírus ébola confirmados, prováveis ou suspeitos em: Guiné, Libéria, Serra Leoa, Itália, Mali, Nigéria, Senegal, Espanha, Reino Unido e Estados Unidos da América<sup>44</sup>.

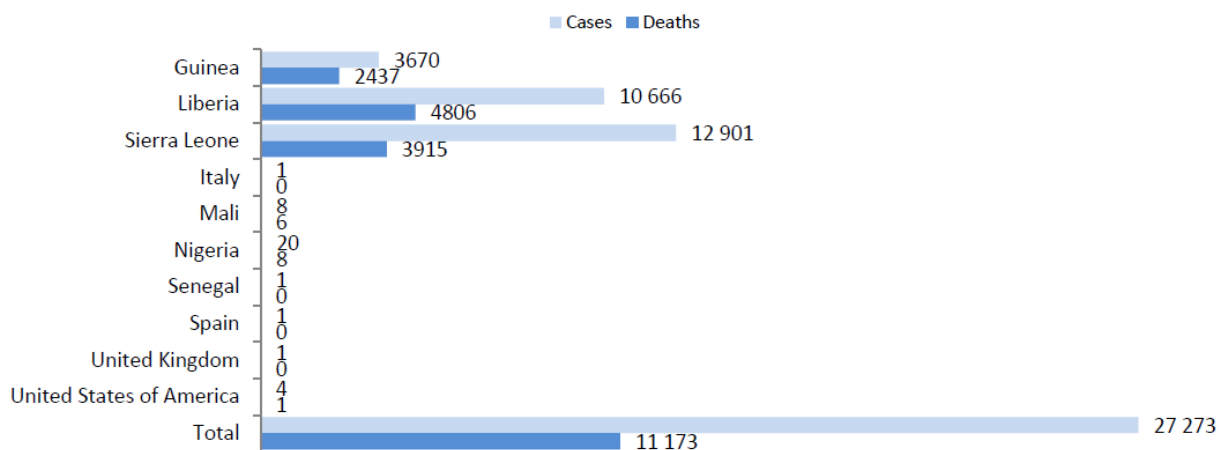


Figura 4 - Casos confirmados, prováveis e suspeitos de infecção por vírus Ébola a nível mundial (dados até 10 junho de 2015)<sup>44</sup>.

Até ao dia 10 junho de 2015, houve um total de 27 237 casos confirmados, prováveis e suspeitos de doença por vírus Ébola nos locais mais afetados (Guiné, Libéria e Serra Leoa), com 11 158 mortes relatadas.

A epidemia na Libéria foi declarada como terminada dia 9 de maio de 2015, após completar 42 dias sem qualquer caso confirmado desde o enterro do último doente a 28 março. O país está agora num período de maior vigilância durante 3 meses<sup>44</sup>.

Existem casos relatados numa área geográfica alargada na Guiné e Serra Leoa, e a contínua ocorrência de casos que surgem a partir de fontes desconhecidas de infecção destaca os desafios ainda enfrentados para encontrar e eliminar cada cadeia de transmissão<sup>44</sup>.

De acordo com a análise dos casos que ocorreram na Guiné, Serra Leoa e Libéria, o número total de casos confirmados é semelhante em homens e mulheres. Relativamente à idade, as pessoas que têm entre 15 e 44 anos são cerca de 3 a 4 vezes mais suscetíveis de serem afetadas do que as crianças (até aos 14 anos inclusive), e pessoas com idade igual ou superior a 45 são 4 a 5 vezes mais suscetíveis de serem afetadas do que as crianças. Foram ainda relatadas 869 infeções de prestadores de cuidados de saúde, dos quais 507 morreram<sup>44</sup>.

Um dos objetivos da OMS é preparar os países para detetar e responder rapidamente a uma exposição ao vírus Ébola, e para isso fornecem apoio através de visitas aos países por equipas de reforço da preparação (PSTs), assistência técnica direta e fornecimento de orientações técnicas e ferramentas, como por exemplo equipamento de proteção individual<sup>44</sup>.

A resposta à epidemia consiste em quatro linhas de atuação: gestão dos casos de doença; descoberta de casos, serviços de laboratório e rastreio de contactos; funerais com segurança e dignidade; Envolvimento da comunidade e mobilização social<sup>44</sup>.

## **6 – Conclusão**

Em agosto de 2014, a Organização Mundial de Saúde declarou a epidemia da doença provocada pelo vírus Ébola como emergência de saúde pública de interesse mundial. Esta foi a primeira vez que este tipo de declaração foi feita após mais de 20 surtos notificados desde a identificação do vírus Ébola, em 1976. A epidemia atual foi responsável por mais casos de doença do que todos os outros surtos anteriores.

A doença provocada pelo vírus é grave e muitas vezes fatal, apresentando uma taxa média de mortalidade de 50% (taxas de mortalidade variaram entre 25% e 90% em surtos anteriores).

Não existe ainda nenhum tratamento aprovado para a doença disponível, mas estão a ser avaliadas e testadas potenciais vacinas e terapias, que incluem produtos derivados do sangue, terapias imunológicas e farmacológicas.

Enquanto as epidemias anteriores de doença por vírus Ébola foram controladas por implementação de estratégias para identificação de casos, isolamento de doentes e rastreio de contactos, o âmbito e a duração da atual epidemia ilustram a importância e necessidade da existência de ferramentas de prevenção adicionais, tais como uma vacina eficaz.

## 7 – Bibliografia

1. NINA J. – **Ebolaviriosis: a 2014 Review for Clinicians**. Acta Med Port. 27, 5 (2014), 625-633.
2. WONG, S.S.; WONG, S.C. – **Ebola virus disease in nonendemic countries**. Journal of the Formosan Medical Association. (2015) 1-15.
3. HOENEN, T.; MARZI, A.; SCOTT, D.P.; FELDMANN, F.; CALLISON, J.; SAFRONETZ, D.; EBIHARA, H.; FELDMANN, H. – **Soluble Glycoprotein Is Not Required for Ebola Virus Virulence in Guinea Pigs**. J Infect Dis. (2015).
4. DZIUBANSKA P.J.; DEREWENDA U.; ELLENA J.F.; ENGEL D.A.; DEREWENDA Z.S. – **The structure of the C-terminal domain of the Zaire ebolavirus nucleoprotein**. Acta Crystallographica Section D Biological Crystallography. 70 (2014), 2420-2429.
5. OLEJNIK J.; RYABCHIKOVA E.; CORLEY R.B.; MUHLBERGER E. – **Intracellular Events and Cell Fate in Filovirus Infection**. Viruses. 3 (2011), 1501-1531. Disponível na internet: [www.mdpi.com/journal/viruses](http://www.mdpi.com/journal/viruses)
6. MISASI, J.; SULLIVAN, N.J. – **Camouflage and Misdirection: The Full-On Assault of Ebola Virus Disease**. Cell. 159, 3 (2014) 477-486.
7. ANSARI, A.A. – **Clinical features and pathobiology of Ebolavirus infection**. J Autoimmun. 55 (2014) 1-9.
8. MENENDEZ, J.M.; SIMON, F.; BARBERAN, J. – **Enfermedad por virus Ebola, una visión global**. Revista Espanola de Quimioterapia. 27, 4 (2014) 230-238.
9. BRAY, M.; GEISBERT, T.W. – **Ebola virus: the role of macrophages and dendritic cells in the pathogenesis of Ebola hemorrhagic fever**. Int J Biochem Cell Biol. 37, 8 (2005) 1560-1566.
10. BEECHING N.J.; FENECH M.; HOULIHAN C.F. – **Ebola virus disease**. BMJ. (2014), 1-15.
11. LIU, W.B.; LI, Z.X.; DU, Y.; CAO, G.W. – **Ebola virus disease: from epidemiology to prophylaxis**. Mil Med Res. 2, 7 (2015) 1-8.
12. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION – **Ebola virus disease information for clinicians in U.S. healthcare settings**. [acedido a 15 de junho de 2015] Disponível na Internet: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/hcp/clinician-information-us-healthcare-settings.html>
13. PARRA, J.M.; SALMERON, O.J.; VELASCO, M. – **The first case of Ebola virus disease acquired outside Africa**. N Engl J Med. 371, 25 (2014) 2439-2440.
14. GOEIJENBIER, M.; VAN KAMPEN, J.J.A.; REUSKEN, C.B.; KOOPMANS, M.P.; VAN GORP, E.C. – **Ebola virus disease: a review on epidemiology, symptoms, treatment and pathogenesis**. Neth J Med. 72,9 (2014) 442-448.
15. STAHL-TIMMINS, W. – **Ebola: a clinical guide**. The BMJ. (2014).
16. SCHIEFFELIN, J.S.; SHAFFER, J.G.; GOBA, A.; ET AL. – **Clinical illness and outcomes in patients with Ebola in Sierra Leone**. N Engl J Med. 371, 22 (2014) 2092-2192.
17. KREUELS, B.; WICHMANN, D.; EMMERICH, P.; SCHMIDT-CHANASIT, J.; DE HEER, G.; KLUGE, S.; SOW, A.; RENNE, T.; GUNTHER, S.; LOHSE, A.W.; ADDO, M.M.; SCHMIEDEL, S. – **A case of severe Ebola virus infection complicated by gram-negative septicemia**. N Engl J Med. 371, 25 (2014) 2394-2401.
18. JAMIESON, D.J.; UYEKI, T.M.; CALLAGHAN, W.M.; MEANEY-DELMAN, D.; RASMUSSEN, S.A. – **What obstetrician-gynecologists should know about Ebola: a perspective from the Centers for Disease Control and Prevention**. Obstet Gynecol. 124, 5 (2014) 1005-1010
19. MAHANTY, S.; BRAY, M. – **Pathogenesis of filoviral haemorrhagic fevers**. Lancet Infect Dis. 4,8 (2004) 487- 498.
20. MARTINES R.B.; NG D.L.; GREER P.W.; ROLLIN P.E.; ZAKI S.R. – **Tissue and celular tropismo, pathology and pathogenesis of Ebola and Marburg viruses**. Journal of Pathology. 235 (2005), 153-174. Disponível na internet: [www.thejournalofpathology.com](http://www.thejournalofpathology.com)
21. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION – **Considerations for discharging persons under investigation (PUI) for Ebola virus disease**. [acedido a 15 de junho de 2015] Disponível na Internet: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/hcp/considerations-discharging-pui.html>

22. DECKER, B.K.; SEVRANSKY, J.E.; BARRETT, K.; DAVEY, R.T.; CHERTOW, D.S. – **Preparing for critical care services to patients with Ebola.** *Ann Intern Med.* 161, 11 (2014) 831-832.
23. ANSUMANA, R.; JACOBSEN, K.H.; SAHR, F.; IDRIS, M.; BANGURA, H.; BOIE-JALLOH, M.; LAMIN, J.M.; SESAY, S. – **Ebola in Freetown área, Sierra Leone – a case study of 581 patients.** *N Engl J Med.* 372, 6 (2015) 587-595.
24. SOARES, L.M.; MARCELINO, M.; DUARTE, D.; OLIVEIRA, M. – **Orientações de Acesso a Terapêuticas Experimentais para doença por vírus Ébola.** *INFARMED, IP.* (2014) 1-7.
25. CHERTOW, D.S.; KLEINE, C.; EDWARDS, J.K.; SCAINI, R.; GIULIANI, R.; SPRECHER, A. – **Ebola virus disease in West Africa – clinical manifestations and management.** *N Engl J Med.* 371, 22 (2014) 2054-2057.
26. OESTEREICH, L.; LUDTKE, A.; WURR, S.; RIEGER, T.; MUNOZ-FONTELA, C.; GUNTHER, S. – **Successful treatment of advanced Ebola virus infection with T-705 (favipiravir) in a small animal model.** *Antiviral Res.* 105 (2014) 17-21.
27. SMITHER, S.J.; EASTAUGH, L.S.; STEWARD, J.A.; NELSON, M.; LENK, R.P.; LEVER, M.S. – **Post-exposure efficacy of oral T-705 (favipiravir) against inhalational Ebola virus infection in a mouse model.** *Antiviral Res.* 104 (2014) 153-155.
28. LITTERMAN, N.; LIPINSKI, C.; EKINS, S. – **Small molecules with antiviral activity against the Ebola virus.** *FI000Res.* 4,38 (2015) 1-7.
29. PETTITT, J.; ZEITLIN, L.; KIM, H.; WORKING, C.; JOHNSON, J.C.; BOHOROV, O.; BRATCHER, B.; HIATT, E. – **Therapeutic intervention of Ebola virus infection in rhesus macaques with the MB-003 monoclonal antibody cocktail.** *Sci Transl Med.* 5, 199 (2013).
30. GEISBERT, T.W.; LEE, A.C.; ROBBINS, M.; GEISBERT, J.B.; HONKO, A.N.; SOOD, V.; JOHNSON, J.C.; JONG, S.; TAVAKOLI, I.; JUDGE, A.; HENSLEY, L.E.; MACIACHIAN, I. – **Postexposure protection of non-human primates against a lethal Ebola virus challenge with RNA interference: a proof-of-concept study.** *Lancet.* 375, 9729 (2010) 1896-1905.
31. WARREN, T.K.; WHITEHOUSE, C.A.; WELLS, J.; WELCH, L.; HEALD, A.E.; CHARLESTON, J.S. – **A single phosphorodiamidate morpholino oligomer targeting VP24 protects rhesus monkeys against lethal Ebola virus infection.** *MBIO.* 6,1 (2015)1-4.
32. WARREN, T.K.; WELLS, J.; PANCHAL, R.G.; STUTHMAN, K.S.; GARZA, N.L.; VAN TONGEREN, S.A.; DONG, L.; RETTERER, C.J.; EATON, B.P. – **Protection against filovirus diseases by a novel broad-spectrum nucleoside analogue BCX4430.** *Nature.* 508, 7496 (2014) 402-405.
33. PICAZO, E.; GIORDANETTO, F. – **Small molecule inhibitors of ebola virus infection.** *Drug Discov Today.* 20, 2 (2015) 277-286.
34. YUAN, S. – **Possible FDA-approved drugs to treat Ebola virus infection.** *Infect Dis Poverty.* 4,23 (2015) 1-10.
35. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION – **Infection prevention and control recommendations for hospitalized patients with known or suspected Ebola hemorrhagic fever in U.S. hospitals.** [acedido a 2 de junho de 2015]. Disponível na Internet: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/hcp/infection-prevention-and-control-recommendations.html>
36. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION – **Recommendations for safely performing acute hemodialysis in patients with Ebola virus disease in U.S. hospitals.** [acedido a 29 de maio de 2015]. Disponível na Internet: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/hcp/guidance-dialysis.html>
37. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION – **Interim guidance for environmental infection control in hospitals for Ebola virus.** [acedido a 2 de junho de 2015]. Disponível na Internet: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/hcp/environmental-infection-control-in-hospitals.html>
38. KRAUSE, P.R.; BRYANT, P.R.; CLARK, T.; DEMPSEY, W.; HENCHAL, E.; MICHAEL, N.L.; REGULES, J.A.; GRUBER, M.F. – **Immunology of protection from Ebola virus infection.** *Sci Transl Med.* 7, 286 (2015) 1-4.
39. CHOI, W.Y.; HONG, K.J.; HONG, J.E.; LEE, W.J. – **Progress of vaccine and drug development for Ebola preparedness.** *Clin Exp Vaccine Res.* 4, 1 (2015) 11-16.



40. LEDGERWOOD, J.E.; DEZURE, A.D.; STANLEY, D.A.; NOVIK, L.; ENAMA, M.E.; BERKOWITZ, N.M.; HU, Z.; JOSHI, G.; PLOGUIN, A.; SITAR, S. – **Chimpanzee Adenovirus Vector Ebola Vaccine – Preliminary Report.** N Engl J Med. (2014).
41. HOENEN, T.; GROSETH, A.; FELDMANN, H. – **Current ebola vaccines.** Expert Opin Biol Ther. (2012) 1-14.
42. REGULES, J.A.; BEIGEL, J.H.; PAOLINO, K.M.; VOELL, J.; CASTELLANO, A.R.; MUNOZ, P.; MOON, J.E.; RUCK, R.C. – **A Recombinant Vesicular Stomatitis Virus Ebola Vaccine – Preliminary Report.** N Engl J Med. (2015).
43. SARWAR, U.N.; COSTNER, P.; ENAMA, M.E.; BERKOWITZ, N.; HU, Z.; HENDEL, C.S.; SITAR, S. – **Safety and immunogenicity of DNA vaccines encoding Ebolavirus and Marburgvirus wild-type glycoproteins in a phase I clinical trial.** J Infect Dis. 211,4 (2015) 549-557.
44. WORLD HEALTH ORGANIZATION – **Ebola Situation Report- 10 June 2015.** [acedido a 2 julho de 2015] Disponível na Internet: <http://www.who.int/csr/disease/ebola/en/>
45. WORLD HEALTH ORGANIZATION – **Ebola Virus Disease Fact Sheet.** [acedido a 20 julho de 2015] Disponível na Internet: <http://who.int/mediacentre/factsheets/fs103/en/>
46. BOCIAGA-JASIK, M.; PIATEK, A.; GARLICKI, A. – **Ebola virus disease – pathogenesis, clinical presentation and management.** Folia Med Cracov. 54,3 (2014) 49-55.