



FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE DO PORTO

## MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2014/2015

Daniela Alexandra de Meneses Rocha Aguiar Pacheco  
Vírus Ébola - de ameaça negligenciada ao estado  
de emergência global

março, 2015

# FMUP



FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE DO PORTO

Daniela Alexandra de Meneses Rocha Aguiar Pacheco  
Vírus Ébola - de ameaça negligenciada ao estado  
de emergência global

**Mestrado Integrado em Medicina**

**Área: Microbiologia**

**Tipologia: Monografia**

**Trabalho efetuado sob a Orientação de:**

**Doutora Carmen Maria Lisboa da Silva**

**E sob a Coorientação de:**

**Doutor Acácio Agostinho Gonçalves Rodrigues**

**Trabalho organizado de acordo com as normas da revista:**

**Revista da Associação Médica Brasileira**

março, 2015

**FMUP**

Eu, Daniela Alexandra de Meneses Rocha Aguiar Pacheco, abaixo assinado, nº mecanográfico 200602765, estudante do 6º ano do Ciclo de Estudos Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste projeto de opção.

Neste sentido, confirmo que **NÃO** incorri em plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 23/03/2015

Assinatura conforme cartão de identificação:

Daniela Pacheco

NOME

Daniela Alexandra de Meneses Rocha Aguiar Pacheco

CARTÃO DE CIDADÃO OU PASSAPORTE (se estrangeiro)

E-MAIL

TELEFONE OU TELEMÓVEL

13439325

med06231@med.up.pt

961059487

NÚMERO DE ESTUDANTE

DATA DE CONCLUSÃO

200602765

2015

DESIGNAÇÃO DA ÁREA DO PROJECTO

Microbiologia

TÍTULO DISSERTAÇÃO/MONOGRAFIA (riscar o que não interessa)

Vírus Ébola – de ameaça negligenciada ao estado de emergência global

ORIENTADOR

Carmen Maria Lisboa da Silva

COORIENTADOR (se aplicável)

Acácio Agostinho Gonçalves Rodrigues

É autorizada a reprodução integral desta Dissertação/Monografia (riscar o que não interessa) para efeitos de investigação e de divulgação pedagógica, em programas e projectos coordenados pela FMUP.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 23 / 03 / 2015

Assinatura conforme cartão de identificação:

Daniela Pacheco

## **Dedicatória**

Aos meus pais,  
Às vítimas do Ébola,  
e a todos os que ajudam a combater a doença

# **Vírus Ébola - de ameaça negligenciada ao estado de emergência global**

## **Ebola virus - from neglected threat to global emergency state**

Daniela Pacheco <sup>a</sup>, Acácio Rodrigues <sup>b</sup>, Carmen Lisboa <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Faculdade de Medicina do Porto, Porto, Portugal

<sup>b</sup> Departamento de Microbiologia, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Portugal

<sup>c</sup> Departamento de Microbiologia, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Portugal

Trabalho realizado no Serviço e Laboratório de Microbiologia, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

\*Autor para correspondência:

Daniela Pacheco

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Alameda Prof. Hernâni Monteiro

4200-319 Porto, Portugal

Correio eletrónico: [daniela.aguiar.pacheco@gmail.com](mailto:daniela.aguiar.pacheco@gmail.com)

## **Resumo**

**Objetivos:** Esta revisão tem como objetivos atualizar os conhecimentos sobre a Doença do Vírus Ébola (DVE) e sobre os recentes avanços nos métodos de diagnóstico, tratamento e prevenção.

**Métodos:** Foi realizada uma revisão de literatura, utilizando as seguintes bases de dados: ISI Web of Knowledge, Pubmed, IRIS, SCOPUS e os sites do CDC e da OMS. Adicionalmente, foram incluídos artigos e relatórios referenciados na pesquisa bibliográfica de base e notícias consideradas relevantes.

**Resultados:** O vírus Ébola, endêmico em algumas regiões de África é responsável por uma forma grave de febre hemorrágica no homem e os morcegos são provavelmente o seu reservatório natural. É um vírus extremamente virulento e de fácil transmissão pelos fluidos corporais. A complexa fisiopatologia da doença, caracterizada pela imunossupressão e estímulo de uma intensa resposta inflamatória, resulta numa síndrome semelhante ao choque séptico. O seu diagnóstico é difícil, devido à sintomatologia inicial que mimetiza outras doenças. Apesar das altas taxas de mortalidade que podem ascender aos 90%, não existe profilaxia (química ou vacinal) ou tratamento eficaz. Encontram-se em desenvolvimento duas vacinas e terapias experimentais para a prevenção e tratamento da DVE.

**Conclusão:** Apesar de ser um vírus conhecido há cerca de 40 anos, o escasso conhecimento entretanto obtido e o desinteresse das entidades governamentais de países envolvidos justificam o estado de emergência que se vive atualmente em relação a este agente infeccioso. Apenas a coordenação de múltiplas entidades e o empenho efetivo da comunidade internacional facilitará o seu controlo e prevenção eficaz.

**Unitermos:** vírus Ébola, epidemiologia, fisiopatologia, tratamento, negligenciada

## **Abstract**

**Objectives:** This review aims to provide an overview of Ebola Virus Disease (EVD) for clinicians and summarizes recent advances in diagnosis, treatment and prevention.

**Methods:** We performed a literature review. ISI Web of Knowledge, Pubmed, IRIS, SCOPUS, CDC and WHO websites' were our main data sources. Additional articles, and reports found in the references of the selected ones, pertinent news were also included.

**Results:** The Ebola virus, endemic in some regions of Africa is responsible for a severe form of hemorrhagic fever in humans, and bats are considered its natural reservoir. It is an extremely virulent virus and easily transmitted by body fluids. The disease's complex pathophysiology, characterized by immunosuppression and stimulation of an intense inflammatory response, results in a syndrome resembling a septic shock. The early clinical presentation overlaps with other infectious disease, opening differential diagnosis difficult. Despite the high mortality rates that can amount to 90%, there is no prophylaxis (chemical or vaccine) or effective treatment. Experimental therapies and promising vaccines are being developed for prevention and treatment of EVD.

**Conclusion:** Despite being known for more than 40 years, scarce knowledge obtained meanwhile and the lack of interest of the authorities justifies the present situation of global emergency of such neglected infections disease. Only the coordination of multiple entities and the effective commitment of the international community will facilitate their control and effective prevention.

**Key words:** Ebola virus, epidemiology, pathophysiology, treatment, neglected



## Introdução

O vírus Ébola causa a Doença do Vírus Ébola (DVE) ou simplesmente Ébola, em humanos e primatas não humanos (PNHs).<sup>1</sup> O Ébola também é designado por febre hemorrágica, um termo geral atribuído a um grupo de doenças graves associadas a hemorragias e causada por vários vírus, no qual o vírus Ébola se inclui.<sup>2</sup>

Foi identificado pela primeira vez em 1976, durante um surto no Zaire<sup>3</sup>, e desde então cinco espécies foram isoladas: *Zaire Ebolavirus* (ZEBOV), *Sudan Ebolavirus* (SUDV), *Bundibugyo Ebolavirus* (BDBV) *Tai Forest Ebolavirus* (TAFV) e *Reston Ebolavirus* (RESTV). A taxa de mortalidade do Ébola varia entre 40% e 90%, conforme a espécie em questão.<sup>4</sup>

Desde a sua descoberta, alguns surtos esporádicos ocorreram entretanto, na África Central. Contudo, desde Março de 2014, os países da costa africana ocidental (Guiné, Serra Leoa e Libéria) atravessam o maior e mais severo surto de Ébola até então reportado.<sup>5</sup> Em 8 de Agosto de 2014, a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou o surto na África Ocidental como uma emergência global de saúde pública.<sup>6</sup>

O Ébola apresenta um período de incubação que varia entre 2 e 21 dias. Inicialmente, o doente manifesta sinais e sintomas de gripe que rapidamente progridem para hemorragias, choque e falência multiorgânica.<sup>5</sup> A sua patofisiologia caracteriza-se por uma intensa resposta inflamatória, seguida por insuficiência do sistema imunitário, alterações vasculares e da coagulação.<sup>5,7</sup> O Ébola devido à sua elevada virulência, alta taxa de mortalidade e facilidade de transmissão pelos fluidos corporais, é considerado como um agente de bioterrorismo de categoria A pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) e pelo *National Institute of Allergy and Infectious Diseases* (NIAID).<sup>8,9</sup>

Não há nenhum protocolo profilático eficaz para o Ébola. O tratamento disponível resume-se a cuidados paliativos, com alívio sintomático e medidas de suporte. Algumas vacinas e fármacos mostraram ser bons candidatos e parecem ser promissores no futuro. Desse modo, a prevenção é fundamental e a DVE deve ser reportada ao *National Notifiable Disease Surveillance System* (NNDSS). As medidas mais eficientes para controlo da propagação da doença envolvem o isolamento dos

indivíduos infetados e procedimentos médicos de contenção, de modo a evitar a infecção dos profissionais de saúde.<sup>10, 11</sup>

Apesar de quatro décadas de existência documentada do vírus e de valores de mortalidade que podem ascender aos 90%, não existe ainda nenhum tratamento efetivo para o Ébola, podendo esta doença ser considerada uma doença tropical negligenciada.

A presente revisão tem como objetivos contextualizar os surtos de Ébola, desde a sua descoberta aos tempos atuais, descrever a biologia do vírus, atualizar os conhecimentos sobre a fisiopatologia da doença e métodos de diagnóstico, elencar as opções terapêuticas em curso e as medidas de prevenção.

### **Espécies do vírus Ébola**

O vírus Ébola pertence à família *Filoviridae* e ao género *Ebolavirus*. O vírus Ébola é classificado em 5 espécies: *Zaire Ebolavirus* (ZEBOV), *Sudan Ebolavirus* (SUDV), *Bundibugyo Ebolavirus* (BDBV), *Tai Forest Ebolavirus* (TAFV), vindos de África e o *Reston Ebolavirus* (RESTV), originário da Ásia. As 5 espécies diferem entre si em 40% da sequência de aminoácidos.<sup>1, 4, 7</sup>

Todas as espécies originárias de África causam DVE em humanos e primatas não humanos (PNHs).<sup>12</sup> A única espécie não originária de África, o *Reston Ebolavirus* foi isolado pela primeira vez em macacos (*Macaca fascicularis*), importados das Filipinas para uma unidade de quarentena em Reston, Estados Unidos, em 1989. Em 2008, foi reisolado de macacos *cynomolgus* e pela primeira vez, em porcos das Filipinas.<sup>13, 14</sup> Anticorpos anti- RESTV foram detetados no soro de criadores de suínos das Filipinas, mas que não manifestaram sintomas clínicos; até ao presente, nunca foi reportado nenhum caso de DVE em humanos. Contudo, a infecção provocada pelo RESTV pode ser fatal em macacos *cynomolgus* e em roedores.<sup>14</sup>

Dentro dos casos de DVE em humanos, 90% são atribuídos ao ZEBOV e SUDV. O ZEBOV, SUDV e BDBV são responsáveis por surtos em humanos, com diferentes taxas de mortalidade: de 80 a 90%, 40 a 60% e 40%, respetivamente. Relativamente ao TAFV é apenas conhecido um caso de infecção em humanos, mas que não foi fatal.<sup>1, 4, 7</sup>

## Revisão dos surtos de Ébola

O vírus foi reconhecido pela primeira vez próximo do rio Ébola, que atravessa a região de Yambuku no Zaire, de onde resulta o seu nome.<sup>3</sup>

O vírus Ébola foi identificado em humanos em 1976, correspondente a duas espécies diferentes, o *Sudan Ebolavirus* (no Sudão) e o *Zaire Ebolavirus* (no Zaire).<sup>3, 15</sup>

No Sudão, julga-se que um trabalhador tenha sido infetado por um morcego insetívoro, tendo a doença sido disseminada a partir de contacto pessoal nos hospitais de duas cidades. No Zaire, pensa-se que o vírus contraído por um professor, seja proveniente de carne fresca de antílope e macaco consumidas algumas semanas antes. Também aqui, a disseminação na população aconteceu a partir do hospital da cidade. Mais tarde, já na década de 90, este vírus surge relacionado com a prática de cerimónias fúnebres e com a caça de PNHs.<sup>16, 17</sup>

A terceira espécie do vírus, *Tai Forest Ebolavirus*, surge em 1994 na Costa do Marfim, após 15 anos sem surtos reportados de Ébola. Este vírus foi relacionado com a autópsia de um chimpanzé, tendo sido detetado apenas um único caso numa etologista suíça.<sup>13, 16-18</sup>

Na cronologia, da descoberta até à década de 90 (fig.1), constata-se que, excepto um caso de contaminação laboratorial em Inglaterra e outro na Rússia, os surtos foram detetados maioritariamente nas regiões do Zaire/ República Democrática do Congo (RDC), Sudão e Gabão.<sup>13, 16-19</sup> Neste período, registaram-se 703 mortes num total de 1.105 casos, correspondendo a uma taxa de mortalidade de ~64%.<sup>13</sup>

A quarta e última espécie do vírus em humanos surgiu em 2007 em Bundibugyo, no Uganda tendo sido denominada de acordo com o local.<sup>13, 17</sup>

Na década de 2000 (fig.1), com excepção de um caso de contaminação laboratorial na Rússia, apenas quatro países foram atacados pelo vírus - Uganda, a República do Congo, Gabão e Sudão, com 777 mortes registadas, num total de 1.253 casos (taxa de mortalidade de 62%).<sup>13, 17</sup>

Desde 2010, os países mais atingidos pelo vírus, foram novamente o Uganda e a República do Congo, com um total de 120 casos e 70 mortes (58.3% de mortalidade).<sup>13</sup>

O caso índice nos surtos, não é frequentemente identificado, mas tipicamente inicia-se por um ou poucos casos de transmissão zoonótica, que subsequentemente se

prolongam por cadeias de transmissão intra-familiar e associado a unidades de saúde (nosocomial).<sup>20, 21</sup>

Em 23 de Março de 2014, a OMS anunciou um novo surto de Ébola, provocado pela espécie ZEBOV. Iniciado no fim de 2013, na localidade de Gueckedou, na República da Guiné; disseminou-se muito rapidamente aos centros urbanos dos países vizinhos, Libéria e Serra Leoa.<sup>5, 22</sup> Num período de poucos meses, foram diagnosticados alguns casos esporádicos também no Senegal, Nigéria, Mali, bem como no Reino Unido, Estados Unidos e Espanha. Os surtos de Ébola nestes últimos países estão oficialmente cessados.<sup>23</sup> No atual surto, o número combinado de casos reportados (24743) e de mortes (10216) é maior que a soma de todos os surtos anteriores.<sup>23</sup>

### **Reservatório e transmissão do vírus**

Têm-se levado a cabo múltiplos estudos com o intuito de esclarecer o reservatório natural dos *Filovirus*. Foram detetados altos títulos de anticorpos anti- vírus Ébola (por serologia) em morcegos da fruta e insetívoros. O fato dos morcegos ficarem infetados e serem capazes de disseminar o vírus, sem ficarem necessariamente doentes sugere que sejam o seu reservatório natural. Tal hipótese é plausível pelo fato de os morcegos serem frequentemente caçados e consumidos em África. Estudos com o *Marburgvirus* também suportam essa hipótese. Contudo a via de transmissão dos morcegos aos humanos e PNHs, assim como os fatores que facilitam este processo não estão ainda suficientemente esclarecidos.<sup>18, 24, 25</sup>

Segundo a OMS, o Ébola é uma zoonose transmitida, pelo contato direto com a carne ou fluidos corporais do reservatório do vírus (morcego da fruta) e de animais selvagens infetados com o vírus, que são encontrados doentes ou mortos na floresta<sup>5</sup> Acredita-se não ser possível a transmissão entre humanos por via aérea; esta forma de transmissão do vírus, é teoricamente muito improvável. De fato, a taxa de mutação desde a sua descoberta é constante e não existem evidências significativas que este se torne mais contagioso e mais facilmente disseminável. Para isso, seria preciso que o vírus sofresse milhares de mutações ao longo de um largo período de tempo.<sup>26</sup> No entanto, foi observado que os suínos , cuja infeção afeta principalmente o trato

respiratório, infetaram letalmente PNHs, sem contato direto, sugerindo assim uma possível transmissão do vírus por aerossóis.<sup>4</sup>

O ZEBOV provocou infecção em animais domésticos, como cães e suínos, mas sem causar doença grave. Revela-se assim outro potencial perigo do vírus, pela capacidade de infetar animais domésticos sem causar doença, podendo no futuro tornarem-se reservatórios e ocorrer um novo tipo de transmissão zoonótica em humanos.<sup>4, 14</sup>

A transmissão entre humanos ocorre por contato direto (através das mucosas e abrasões da pele) com o sangue, órgãos e fluidos corporais de pessoas infetadas ou com superfícies contaminadas com esses fluidos.<sup>1, 5, 22</sup> A transmissão através da pele intata é considerada pouco provável, mas não pode ser completamente descartada.<sup>1</sup>

### **A biologia do vírus Ébola**

O vírus Ébola é um vírus filamentosso de 18.9 Kb, constituído por uma cadeia simples senso- negativa de RNA (ssRNA), com rearranjo helicoidal. O RNA genómico codifica 7 proteínas estruturais: [ glicoproteína major (GP), glicoproteína minor (VP30), proteínas da matriz (VP40 e VP24), nucleoproteína (NP), fosfoproteína VP35 e a polimerase vírica (L)] e duas não estruturais [glicoproteínas secretadas (sGP) e glicoproteínas pequenas e solúveis (ssGP)]. A glicoproteína GP e a proteína da matriz VP40 são os componentes do invólucro vírico que rodeia a nucleocapside. Por sua vez, a nucleocapside é constituída pelo ssRNA, pela NP, pelas proteínas estruturais VP24, VP30, VP35 e pela polimerase vírica (Fig. 2); formam o complexo ribonucleoproteico (RNP), essencial na transcrição e replicação vírica.<sup>7, 27, 28</sup> O NP é o componente mais abundante da nucleocapside, com íntima ligação ao genoma vírico. Foi demonstrado pela primeira vez, que o NP é constituído por dois domínios: um domínio hidrofóbico (N-terminal) e um hidrofílico (C-terminal). O C- terminal é um determinante antigénico importante, com uma baixa conservação da sequência de aminoácidos entre as 5 espécies do *Ebolavirus*.<sup>28</sup>

A glicoproteína GP encontra-se dispersa na superfície do invólucro vírico com uma conformação funcional trimérica. É composta pelos heterodímeros GP1 (uma proteína extracelular) e GP2 (uma proteína ancorada à membrana), ligados por pontes

dissulfito. A GP1 é constituída por um peptídeo sinalizador, 2 domínios exteriores glicosados: o domínio *mucin-like* e o domínio *glycan cap*, que recobrem o domínio de ligação ao receptor (*RBD*), protegendo-o da ação de imunossupressores (Fig 3.). O GP2 tem como componentes peptídeos fusionais, um *N-terminal heptad repeat* (NHR), um *C-terminal heptad repeat* (CHR) e um domínio transmembranar (TM) (Fig. 3).<sup>10, 29</sup> A entrada dos *Filovirus* nas células hospedeiras envolve três fases: adesão celular, endocitose e fusão de membranas celulares. O GP tem um papel essencial nessa entrada.<sup>30</sup> O GP1 é responsável pela ligação a diferentes alvos da célula hospedeira: lectinas tipo-C (DC- SIGN, L-SIGN), recetores tirosinase-cínase da família TAM (Tyro3/Axl/Mer),  $\alpha 5\beta 1$ -integrina e o domínio -1 de mucina das imunoglobulinas T (TIM-1).<sup>31</sup> O virião sofre endocitose e é transportado para endossomas maduros, onde o GP1 é clivado pela ação das proteases endossômicas catepsina L e B, expondo o RBD. O RBD interage com o recetor endossomal *Niemann-Pick C1* (NPC1).<sup>31, 32</sup> Foi demonstrado que o NPC1 é fundamental na entrada dos *Filovirus* e parece ter um importante papel na fusão entre a membrana vírica e a membrana da célula hospedeira.<sup>32</sup> Na sequência, peptídeos fusionais do GP2 inserem-se na membrana endossômica, são formados hexâmeros entre o NHR e CHR, o que induz a fusão de membranas. Depois, o RNA vírico e o RNP são libertados para o citoplasma, onde ocorrem os fenómenos de transcrição, replicação e tradução de proteínas.<sup>10, 29, 33</sup>

O principal produto da transcrição do gene GP é a glicoproteína secretada (sGP), que é libertada em grandes quantidades durante a infeção pelas 5 espécies do vírus e detetada no soro dos hospedeiros. A sGP é sintetizada como uma proteína precursora (pré-sGP) que após sofrer uma clivagem proteolítica, por proteases como a furina gera 2 monómeros: a sGP e um pequeno  $\Delta$ - peptídeo. É sugerido que a sGP participa num mecanismo de subversão antigénica; funciona como um isco e assim compromete a ligação dos anticorpos neutralizantes em circulação à glicoproteína de superfície GP. O  $\Delta$ - peptídeo, ao contrário da sGP, é retido na célula por um longo período, antes de ser libertado para o meio extracelular: foi demonstrado que no meio extracelular, impede a entrada dos *Filovirus* e previne a superinfeção dos alvos celulares, embora o mecanismo não esteja esclarecido.<sup>27, 29</sup>

Os fenómenos de replicação vírica ocorrem no citoplasma da célula hospedeira, enquanto a montagem e libertação das novas partículas víricas decorre na membrana

citoplasmática. As proteínas da matriz VP 24 e principalmente a VP40, que apresentam grande afinidade para as membranas celulares, desempenham um papel fundamental na montagem e libertação do vírus na célula hospedeira.<sup>10</sup>

A proteína VP40 é a proteína mais abundante do vírus e na ausência das outras proteínas constituintes do vírus tem a capacidade de produzir partículas vírus-like (PVLs) em células humanas, parecendo-se em tudo com os viriões de Ébola.<sup>34</sup> A primeira estrutura cristalina do VP40 sugere que fosse um monómero, com dois domínios distintos importantes na interação com a membrana plasmática.<sup>35</sup> Estudos recentes sugerem porém que a VP40 é um dímero, com um domínio N-terminal (DNT) que regula a dimerização e um domínio C-terminal (DCT) que permite a ligação à membrana e a oligomerização.<sup>34</sup> A ligação à membrana plasmática provoca um rearranjo estrutural na proteína VP40: os dímeros passam a adotar uma conformação hexomérica linear. Uma terceira estrutura derivada da VP40 é um octâmero em forma de anel. As três estruturas têm diferentes funções na vida do ciclo celular do vírus: os dímeros permitem a ligação à membrana celular, a estrutura hexamérica participa na montagem da matriz vírica e o octâmero estabelece ligações com o RNA vírico, essenciais para a regulação da transcrição vírica. A VP40 é pois uma proteína multifuncional que ao desempenhar vários papéis no ciclo de vida do vírus, ilustra bem como um vírus constituído por um genoma pequeno consegue assegurar as suas distintas funções essenciais, com um pequeno número de proteínas. A plasticidade da VP40 torna-a um bom alvo terapêutico para o desenvolvimento de antivíricos.<sup>36</sup>

### **Patofisiologia, manifestações clínicas e diagnóstico**

A patofisiologia do Ébola não está ainda bem esclarecida devido à dificuldade em realizar estudos clínicos nas condições dos surtos, pelo que muito da informação sobre a patogenia do vírus é obtida a partir de ensaios laboratoriais. Uma das características comuns da infeção pelos *Filovirus* é o longo intervalo temporal entre os casos iniciais da doença e a identificação do agente, atrasando consequentemente a implementação de medidas de controlo adequadas. Tal resulta na perpetuação da cadeia de transmissão pessoa-pessoa, na comunidade e nos hospitais.<sup>21</sup>

Os *Filovirus* penetram no organismo através das mucosas, abrasões na pele ou injeções acidentais.<sup>30</sup> Vários mecanismos fisiopatológicos explicam como a infecção provocada pelo vírus Ébola causa uma grave febre hemorrágica. Por um lado, a glicoproteína GP e outras proteínas da matriz vírica tem um efeito tóxico direto nas células, destruindo-as. Por outro lado, as interações entre o vírus e o sistema imunitário do hospedeiro contribuem para o seu desenvolvimento.<sup>37</sup> As células apresentadoras de antígenos (CAAs) como macrófagos, monócitos e células dendríticas são as primeiras células a serem infetadas pelo vírus.<sup>37, 38</sup> O vírus replica-se rapidamente e novas cópias são libertadas para o fluido extracelular.<sup>39</sup> As proteínas VP24 e VP35 provocam a desregulação funcional das CAAs, impedindo-as de apresentar antígenos às células T *naive*. A VP24 e a VP35 bloqueiam a resposta antivírica tipo I dos interferões (IFN). A VP35 também provoca a inibição de moléculas co-estimuladoras (CD4, CD80, CD86 e sistema de histocompatibilidade tipo II) e a maturação das células dendríticas.<sup>27, 40</sup> A perda da função das CAAs causa apoptose massiva de linfócitos; contudo estes não são infetados pelo vírus.<sup>40</sup> Paralelamente, as células infetadas libertam uma grande quantidade de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, incluindo as interleucinas IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-10, o fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), a proteína quimiotática dos macrófagos 1 (MCP-1) e óxido nítrico (NO).<sup>27</sup> A resposta inflamatória sistémica provoca febre e o recrutamento de mais CAAs para o local da infecção; tal resulta na disseminação das células infetadas para órgãos linfoides secundários, pulmões, fígado e outros lugares de replicação vírica.<sup>30, 37, 38</sup> A necrose hepatocelular diminui a síntese de fatores de coagulação e proteínas plasmáticas que em conjunto com o TNF- $\alpha$  sintetizado pelos macrófagos, parece explicar as alterações graves de coagulação observados na infecção pelo Ébola.<sup>41</sup> O atingimento das glândulas suprarrenais provoca uma depleção de sódio, hipotensão secundária e hipovolémia. Não se sabe se a disfunção no trato gastrointestinal (vómitos, diarreia e hemorragias) resulta do efeito direto da replicação vírica e/ou das citocinas circulantes. Apesar da lesão direta dos órgãos, a gravidade da doença deve-se em muito à resposta inflamatória descontrolada que provoca um aumento da permeabilidade vascular, da vasodilatação e uma perda da função endotelial. Tal resulta, em uma disfunção multiorgânica e numa síndrome semelhante ao choque séptico, que em última instância é fatal.<sup>38, 40</sup>



O período de incubação do Ébola varia de 2 a 21 dias <sup>5</sup>; é distinto entre as diferentes espécies do vírus <sup>42</sup> e depende também do tipo de transmissão (6 dias para transmissão percutânea, 10 dias para a de contato).<sup>43</sup> Os indivíduos assintomáticos, ainda no período de incubação, não são contagiosos. Contudo os indivíduos sintomáticos albergam o vírus no sangue e outros fluidos corporais e as medidas de isolamento necessárias têm de ser tomadas e os profissionais de saúde notificados. <sup>44</sup> Inicialmente, os doentes manifestam sintomas de gripe, como febre, fadiga, cefaleias, mialgias, odinofagia.<sup>5</sup> Posteriormente, verifica-se um atingimento multissistêmico, com envolvimento dos sistemas gastrointestinal, respiratório, neurológico e vascular.<sup>38, 45</sup> Manifestações hemorrágicas (petéquias, hematomas, hemorragia nas mucosas e nos locais de punção venosa, melenas, hemoptises) podem ser observadas no pico da doença. Pode se desenvolver um rash maculopapular difuso e não pruriginoso, na face tronco e braços, 5 a 7 dias após o início dos sintomas, seguido geralmente por descamação nos sobreviventes.<sup>46, 47</sup> Um desafio do diagnóstico do Ébola, é o fato de mimetizar outras doenças como malária, febre tifóide, dada a sua sintomatologia inicial não específica.<sup>48</sup> Também é difícil a distinção entre a DVE e outras febres hemorrágicas, endêmicas nas mesmas regiões.<sup>49</sup> Segundo o CDC, deve ser considerado um caso possível de Ébola se presentes os seguintes dois critérios: 1- presença de febre ou sensação subjetiva da mesma ou sintomas como cefaleias, astenia, mialgias, vômitos, diarreia, dores abdominais e hemorragias inexplicáveis; e 2- apresentar risco epidemiológico, nos 21 dias precedentes ao início dos sintomas. Por risco epidemiológico entende-se por exemplo ter viajado para um país alvo da disseminação rápida do vírus, ter contactado com um doente sintomático com Ébola ou com animais infectados com o vírus.<sup>50, 51</sup> A confirmação diagnóstica do Ébola envolve a detecção de sequências do RNA vírico por reação inversa da polimerase em cadeia (RT-PCR), ou pesquisa de antígenos víricos por ensaio imunoenzimático (ELISA) no sangue e fluidos corporais. O vírus só atinge níveis detectáveis no sangue 3 dias após o início dos sintomas. A determinação da IgM é pouco sensível para o diagnóstico precoce, mas é útil para monitorizar a resposta imune do doente. <sup>52, 53</sup> Tais testes de diagnóstico exigem laboratórios de referência, pessoal treinado e demoram entre 12 a 24 horas, pelo que seria muito importante poder dispor de testes rápidos de diagnóstico.<sup>54</sup> A 19 de Fevereiro de 2015, a OMS aprovou a utilização do *ReEBOV™ Antigen Rapid Test Kit®*

(Corgenix Medical Corporation, Broomfield, USA) nos países afetados pelo Ébola. É um teste de detecção qualitativa do antigénio VP 40 do ZEBOV por imunocromatografia, com resultados em 15 minutos; existe uma sensibilidade de 92 % em doentes infetados com o *Zaire Ebolavirus*.<sup>55</sup>

O período de convalescença é longo sendo marcado por astenia, extensa descamação da pele e perda de cabelo devido à necrose das glândulas e outras estruturas da pele provocada pelo vírus.<sup>56</sup> Durante a recuperação, a formação de imunocomplexos é responsável por artralguas agudas.<sup>37</sup> O doente continua infetado enquanto o seu sangue e os fluidos corporais, contiverem o RNA vírico.<sup>5</sup> É importante realçar que o vírus pode persistir em alguns fluidos corporais, como o sémen e leite materno, mesmo após não ser detetável no sangue.<sup>57, 58</sup>

A resposta imunológica nos doentes infetados com Ébola não está ainda bem caracterizada. Os doentes que sobrevivem geralmente melhoram na segunda semana após início da doença<sup>39</sup>, enquanto os casos fatais são caracterizados por sintomas e sinais iniciais mais graves que progridem para falência multiorgânica; morrem tipicamente na segunda semana.<sup>59, 60</sup> Foi demonstrado que os sobreviventes à infeção apresentavam uma resposta IgM, 2 dias após o aparecimento dos sintomas e uma resposta IgG, 5 a 8 dias após a instalação de sintomas. Por outro lado, nos casos fatais parecia haver uma ausência de resposta IgG e só 30 % desses doentes desenvolveram uma resposta IgM.<sup>59,61</sup>

### **Atitudes terapêuticas**

Não existe ainda um tratamento eficaz para o Ébola. O tratamento atual é meramente de suporte, envolvendo medidas de controlo da febre, da dor e de infeções secundárias, bem como fluidoterapia e tratamento da insuficiência renal.<sup>10, 11</sup>

Os primatas não humanos são o modelo animal padrão para o estudo do vírus e para pesquisas terapêuticas na DVE. Todavia, as implicações éticas exigem habitualmente a realização de estudos preliminares, em animais de pequeno porte (modelo de ratos imunodeficientes, cobaios e hamsters), com evidência de sucesso.<sup>62</sup> No entanto, devido à severidade e magnitude do surto atual, a OMS declarou que é eticamente lícito, a utilização de fármacos experimentais para a prevenção e tratamento

do Ébola em humanos.<sup>63</sup> As investigações em curso no âmbito de tratamentos para o Ébola incluem ZMapp, TKM-Ebola, BCX-4430, antivíricos (brincidofovir e favipiravir), transfusões de plasma de sobreviventes e oligômeros morfolino fosforodiamidatos (POMs).<sup>11, 62, 64, 65</sup>

O ZMapp é um *cocktail* de anticorpos monoclonais, já utilizado em vítimas do surto atual, mas cujos resultados não foram ainda publicados.<sup>66</sup> Em PNHs o ZMapp, foi capaz de reverter o avanço do Ébola, 5 dias pós-exposição.<sup>67</sup>

O TKM-Ebola é um novo fármaco aprovado pela *US Food Drug and Administration*. Utiliza a tecnologia *small interfering RNA* (si-RNA) e que afeta especificamente três proteínas (VP24, VP35, L) do vírus, reduzindo a sua replicação.<sup>68</sup> A 12 de Março de 2015, começou um ensaio clínico de fase II na Serra Leoa e na segunda metade de 2015 prevê-se se estenda à Guiné.<sup>69</sup>

O BCX- 4430 é um novo análogo nucleosídico que inibe indiretamente a polimerase de RNA, bloqueando a transcrição e replicação vírica. Mostrou eficácia em ratos e macacos infetados pelos vírus Ébola e Marburg, respetivamente.<sup>70</sup> O seu uso em PNHs obteve resultados promissores: uma taxa de sobrevivência de 83% dos macacos infetados com Ébola, relativamente ao grupo de controlo.<sup>71</sup> Desde Dezembro de 2014, está a ser avaliada em ensaios clínicos de fase I.<sup>72</sup>

Dois fármacos antivíricos pré-existentes (brincidofovir e favipiravir) foram aprovados pela OMS para uso no surto atual.<sup>73</sup> O brincidofovir mostrou actividade *in vitro* contra o Ébola<sup>74</sup> e foi reportada a sua administração em pacientes com DVE, no Estados Unidos da América.<sup>75</sup> O favipiravir mostrou bons resultados contra o Ébola em modelos de pequenos animais.<sup>76</sup> Em Dezembro, na Guiné começaram os ensaios clínicos com o favipiravir. Desde Janeiro, o brincidofovir é utilizado no centro de tratamentos em Monrovia, Libéria.<sup>77</sup>

Dada a severidade da doença e a ausência de tratamentos eficazes, há um interesse crescente na utilização de terapia com plasma de convalescentes (TPC). Durante o surto de 1995 na RDC, a sobrevivência de doentes a quem foi administrado TPC sugeriu que este tipo de imunização passiva poderia trazer benefícios.<sup>56</sup> Ensaio clínicos de TPC começaram recentemente na Libéria e num futuro próximo irão estender-se também à Guiné e Serra Leoa. Se houver evidência de sucesso, os

sobreviventes do Ébola, que não contenham o RNA vírico nos fluidos corporais, poderão ser dadores de um litro de plasma, a cada duas semanas.<sup>78</sup>

Os PMOs são análogos de ácidos nucleicos modificados que atuam em sequências de mRNA, impedindo a transcrição vírica. Estão em investigação o AVI-7537 e o AVI-7288. Mostram-se protetores em ratos e cobaias infetados com Ébola e Marburg<sup>65</sup> e mostraram segurança em humanos, em estudos de fase I.<sup>79</sup>

### **Medidas preventivas**

Dado que não existe tratamento específico para o Ébola, a prevenção é um aspecto crucial para evitar a disseminação do vírus. A higiene adequada das mãos e evitar o contato com material ou fluidos corporais de pessoas infetados com Ébola são algumas das medidas. Os profissionais de saúde devem vestir um equipamento pessoal de proteção e aplicar medidas de assepsia e controlo adequadas.<sup>80</sup> Existem também protocolos de monitorização e rastreio aos viajantes dos países da África Ocidental afetados pelo Ébola.<sup>81</sup> A atual epidemia é responsável por uma grande divulgação de informação sobre a doença e medidas de prevenção nos meios de comunicação social, hospitais, aeroportos e outras instituições públicas.

### **Vacinas**

Os surtos da DVE, apesar de serem habitualmente limitados em termos de casos número e fatalidades em comparação com outras doenças infecciosas, provocam muitas vezes o fecho das unidades de saúde e a morte do corpo clínico dessas unidades, causando um grande impacto na saúde pública. Além disso, o Ébola é visto como uma ameaça pela sociedade e como um agente de bioterrorismo. Por essas razões o Ébola tornou-se um bom candidato para a vacinação nas áreas de risco.<sup>11</sup>

Na última década verificou-se o desenvolvimento de vacinas que demonstraram ser protetoras em PNHs: adenovirus recombinantes, vírus da estomatite vesicular recombinante, vírus recombinantes Parainfluenza humanos e partículas vírus-like. O desafio futuro envolve a realização de ensaios clínicos em humanos com essas vacinas candidatas e para isso é fundamental conhecer bem o seu mecanismo de ação e

assegurar a sua segurança, principalmente em populações potencialmente imunocomprometidas.<sup>11</sup>

Atualmente, 2 vacinas candidatas recebem especial atenção: a Chimpanze Adenovirus Serotype 3 - (cAd3-EBO), produzida pela *GlaxoSmithKline's* com a colaboração do *United States National Institutes for Health* e a Recombinant Vesicular Stomatitis Virus - (rVSV-EBO), desenvolvida pela *Public Health Agency of Canada*.<sup>73</sup> São vacinas vivas atenuadas que contêm partículas de superfície GP do ZEBOV, não sendo infecciosas.<sup>11</sup>

A cAd3-EBO demonstrou 100% e 50 % de eficácia contra o vírus Ébola, após 5 e 10 semanas de exposição respectivamente, em macacos *cynomolgus*.<sup>82</sup> Uma única dose de rVSV-EBO conferiu proteção total contra uma dose letal de ZEBOV em PNHs.<sup>83</sup> A rVSV-EBO parece conferir proteção tanto através da administração intramuscular como oralmente.<sup>84</sup>

Considerando a atual situação de emergência global, desde Setembro de 2014 as duas vacinas têm sido testadas aceleradamente em vários países. No dia 7 De Março de 2015, começaram os primeiros estudos clínicos de fase III para avaliar a eficácia e efetividade da vacina rVSV-EBOV.<sup>85</sup> Desde o fim de Janeiro que a vacina cAd3-EBO está a ser submetida a ensaios clínicos de fase III na Libéria; nas semanas seguintes espera-se que seja testada também nos países vizinhos afetados pelo Ébola.<sup>86</sup>

## Conclusão

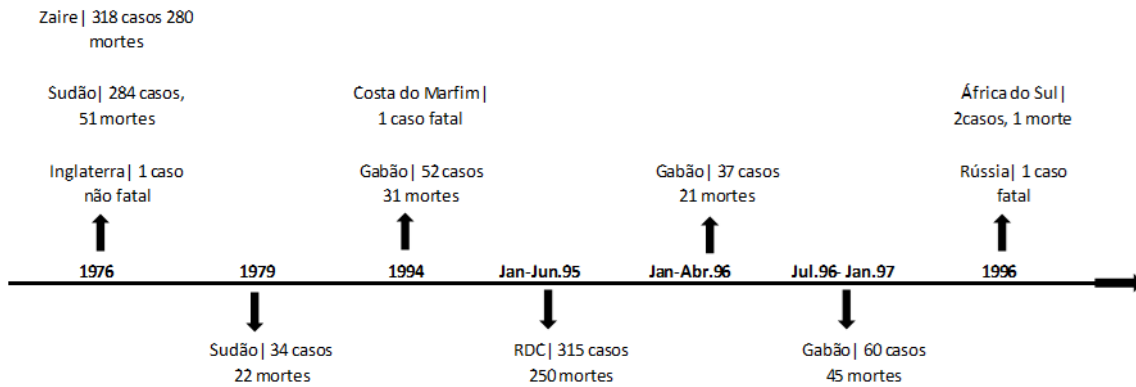
O vírus Ébola é um agente endêmico em algumas regiões de África que causa uma grave febre hemorrágica, de difícil diagnóstico. Essas regiões são alvos de surtos de Ébola, devido a hábitos culturais particulares e à precaridade do sistema de saúde e das condições higieno-sanitárias. As consequências são catastróficas para a saúde pública e economia das regiões afetadas. É importante salientar a severidade da doença e na ausência de tratamento ou vacina eficazes é fundamental a educação da população em geral e dos profissionais de saúde para a prevenção da infecção. A globalização possibilita a emergência da infecção noutros locais do mundo.

Houve um crescente interesse pelo Ébola, principalmente após surtos da doença no Zaire e Gabão, em 1995 e 1996, respetivamente, e depois da reprodução do filme *Outbreak*<sup>87</sup>, baseado no livro de Richard Preston *The Hot Zone*. Foi também abordado num documentário da *National Geographic Channel*.<sup>88</sup>, em que se fez justiça à ameaça que representa, sendo retratado como um assassino microscópico.

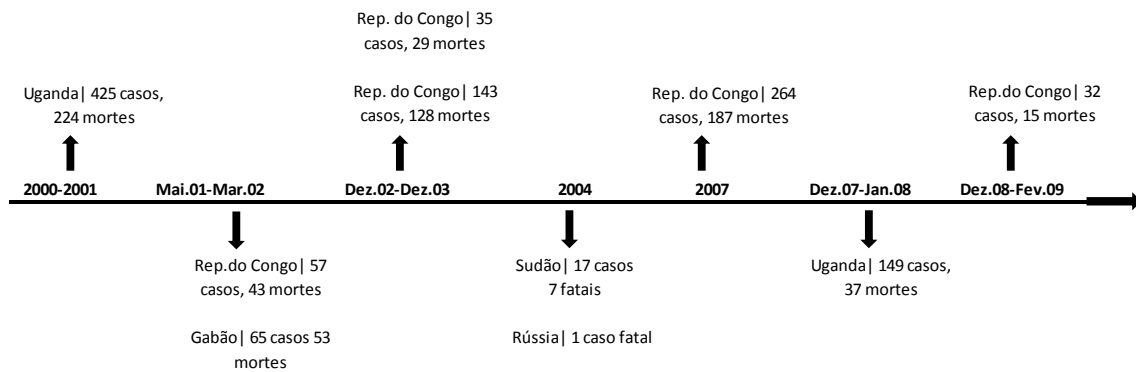
Apesar de ter sido identificado há 40 anos, não estamos ainda completamente esclarecidos relativamente a aspetos essenciais do vírus, nomeadamente transmissão, diagnóstico laboratorial, fisiopatologia, terapêutica específica e vacinação eficaz. O profundo desinteresse demonstrado pelas entidades governamentais e farmacêuticas dos países desenvolvidos, e a passividade da OMS em relação aos países afetados pelo Ébola, levou a que se tenha chegado à presente situação de ameaça global, que seguramente não ficará por aqui.

O combate do Ébola passa obrigatoriamente por um esforço de coordenação global entre países.

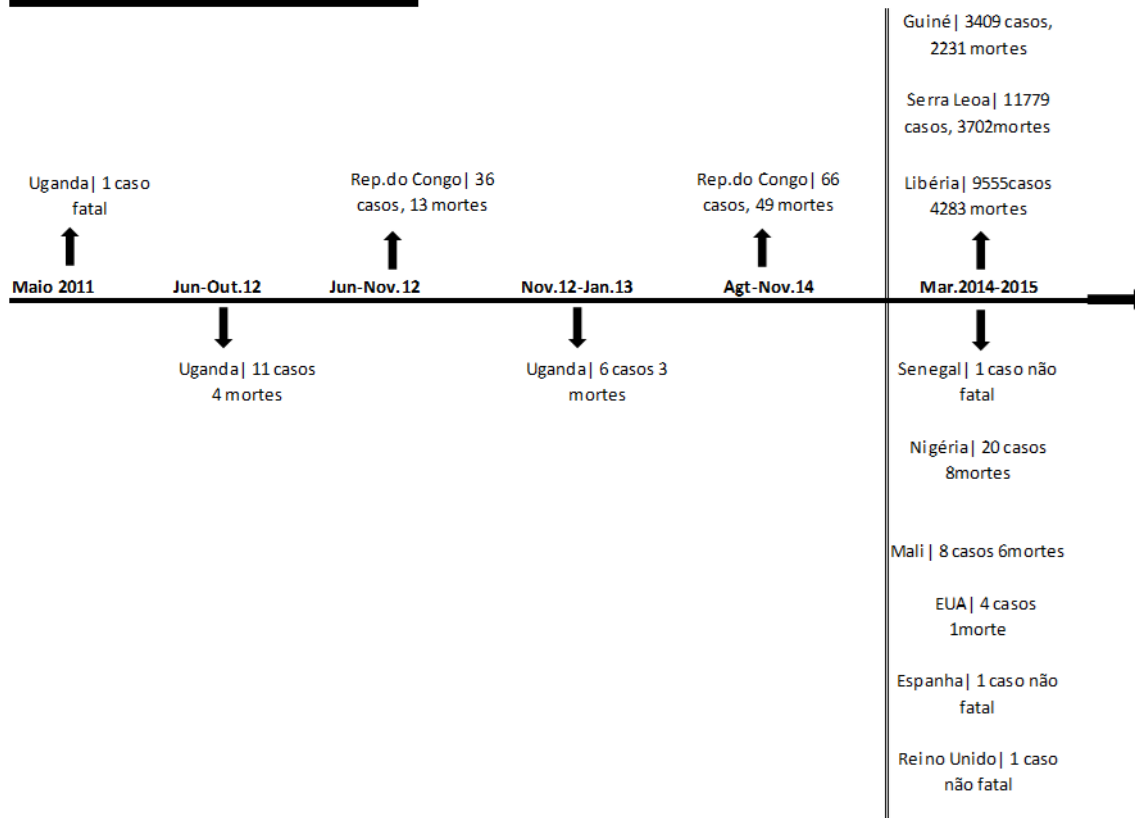
## Da descoberta - década de 90



## Década de 2000



de 2010 a 2015



**Fig 1. Cronologia dos surtos de Ébola.**

Contagem do número de casos totais e mortes por Ébola.

Da descoberta- década de 90. Década de 2000. De 2010 a 2015.

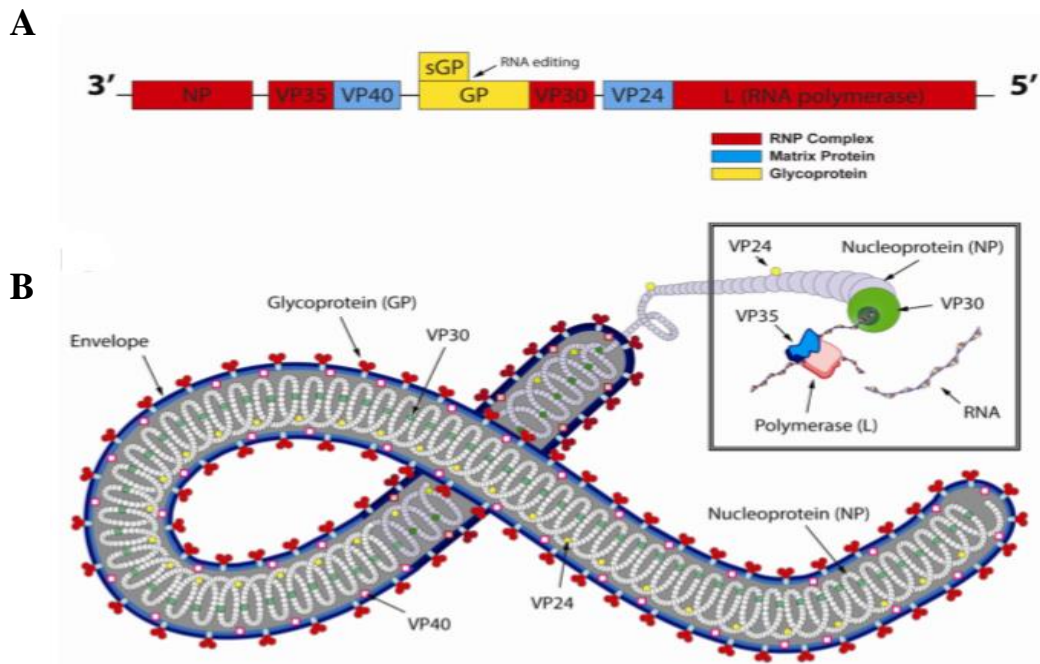
RDC- República Democrática do Congo

Rep Congo- República do Congo

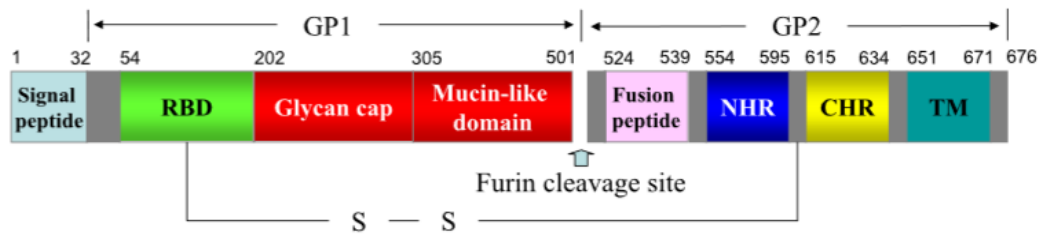
EUA- Estados Unidos da América

Referências <sup>13,16-19, 23</sup>





**Fig. 2 A- Estrutura do genoma do ZaireEbolavirus (ZEBOV).** O RNA genómico codifica 7 proteínas estruturais [ glicoproteína major (GP), glicoproteína minor (VP30), proteínas da matriz (VP40 e VP24), nucleoproteína (NP), fosfoproteína VP35 e a polimerase vírica (L)] e duas não estruturais [glicoproteínas secretadas (sGP) e glicoproteínas pequenas e solúveis (ssGP)]. **B- O rearranjo helicoidal do ZEBOV.** A glicoproteína GP e a VP40 são os componentes do invólucro vírico, que rodeia a nucleocapside. A nucleocapside é constituída pelo RNA, pela nucleoproteína NP, pelas proteínas estruturais VP24, VP30,VP35 e pela polimerase viral L. Referência <sup>10</sup> (Adaptado de Ye L, Yang C. 2015).



**Fig. 3 Constituição da glicoproteína percusora GP.** O GP é clivado em GP1 e GP2 por furinas. A GP1 é constituída por um peptídeo sinalizador, pelo domínio de ligação ao receptor (RBD) e pelos domínios *glycan cap* e *mucin-like* (MLD). O GP2 tem como componentes peptídeos fusionais, um *N-terminal heptad repeat* (NHR), um *C-terminal heptad repeat* (CHR) e um domínio transmembranar (TM).

Referência <sup>27</sup> (Adaptado de Choi J, Croyle M. 2013).

## Referências Bibliográficas

1. Goeijenbier M, van Kampen JJ, Reusken CB, Koopmans MP, van Gorp EC. Ebola virus disease: a review on epidemiology, symptoms, treatment and pathogenesis. *The Netherlands journal of medicine*. 2014;72(9):442-8.
2. WHO. Haemorrhagic fevers, Viral [cited 2015]. Available from: [http://www.who.int/topics/haemorrhagic\\_fevers\\_viral/en/](http://www.who.int/topics/haemorrhagic_fevers_viral/en/).
3. WHO. Ebola haemorrhagic fever in Zaire, 1976. *Bulletin of the World Health Organization*. 1978;56(2):271-93.
4. Ye L, Yang C. Development of vaccines for prevention of Ebola virus infection. *Microbes and infection / Institut Pasteur*. 2015;17(2):98-108.
5. WHO. Ebola virus disease 2014. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/en/>.
6. BBC. WHO: Ebola 'an international emergency' 8 August 2014. Available from: <http://www.bbc.com/news/world-africa-28702356>.
7. Menendez JM, Simon F, Barberan J. [Ebola virus disease, an overview of the problem]. *Revista española de quimioterapia : publicación oficial de la Sociedad Española de Quimioterapia*. 2014;27(4):230-8.
8. Franz DR, Jahrling PB, Friedlander AM, McClain DJ, Hoover DL, Bryne WR, et al. Clinical recognition and management of patients exposed to biological warfare agents. *Jama*. 1997;278(5):399-411.
9. Rotz LD, Khan AS, Lillibridge SR, Ostroff SM, Hughes JM. Public health assessment of potential biological terrorism agents. *Emerging infectious diseases*. 2002;8(2):225-30.
10. Li H, Ying T, Yu F, Lu L, Jiang S. Development of therapeutics for treatment of Ebola virus infection. *Microbes and infection / Institut Pasteur*. 2015;17(2):109-17.
11. Hoenen T, Groseth A, Feldmann H. Current ebola vaccines. *Expert opinion on biological therapy*. 2012;12(7):859-72.
12. Dallatomasina S, Crestani R, Sylvester Squire J, Declerk H, Caleo GM, Wolz A, et al. Ebola outbreak in rural West Africa: epidemiology, clinical features and outcomes. *Tropical medicine & international health : TM & IH*. 2015.
13. CDC. Outbreaks Chronology: Ebola Virus Disease [updated 19 March 2015]. Available from: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/outbreaks/history/chronology.html>.
14. Weingartl HM, Embury-Hyatt C, Nfon C, Leung A, Smith G, Kobinger G. Transmission of Ebola virus from pigs to non-human primates. *Scientific reports*. 2012;2:811.

15. WHO. Ebola haemorrhagic fever in Sudan, 1976. *Bulletin of the World Health Organization*. 1978;56(2):247-70.
16. Pourrut X, Kumulungui B, Wittmann T, Moussavou G, Delicat A, Yaba P, et al. The natural history of Ebola virus in Africa. *Microbes and infection / Institut Pasteur*. 2005;7(7-8):1005-14.
17. Muyembe-Tamfum JJ, Mulangu S, Masumu J, Kayembe JM, Kemp A, Paweska JT. Ebola virus outbreaks in Africa: past and present. *The Onderstepoort journal of veterinary research*. 2012;79(2):451.
18. Stein RA. What is Ebola? *International journal of clinical practice*. 2015;69(1):49-58.
19. Emond RT, Evans B, Bowen ET, Lloyd G. A case of Ebola virus infection. *British medical journal*. 1977;2(6086):541-4.
20. Francesconi P, Yoti Z, Declich S, Onok PA, Fabiani M, Olango J, et al. Ebola hemorrhagic fever transmission and risk factors of contacts, Uganda. *Emerging infectious diseases*. 2003;9(11):1430-7.
21. MacNeil A, Farnon EC, Morgan OW, Gould P, Boehmer TK, Blaney DD, et al. Filovirus outbreak detection and surveillance: lessons from Bundibugyo. *The Journal of infectious diseases*. 2011;204 Suppl 3:S761-7.
22. Kalra S, Kelkar D, Galwankar SC, Papadimos TJ, Stawicki SP, Arquilla B, et al. The emergence of ebola as a global health security threat: from 'lessons learned' to coordinated multilateral containment efforts. *Journal of global infectious diseases*. 2014;6(4):164-77.
23. CDC. 2014 Ebola Outbreak in West Africa - Case Counts [updated 19 March 2015]. Available from: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/outbreaks/2014-west-africa/case-counts.html>.
24. Vogel G. Infectious Disease. Genomes reveal start of Ebola outbreak. *Science*. 2014;345(6200):989-90.
25. Mari Saez A, Weiss S, Nowak K, Lapeyre V, Zimmermann F, Dux A, et al. Investigating the zoonotic origin of the West African Ebola epidemic. *EMBO molecular medicine*. 2015;7(1):17-23.
26. CDC. Why Ebola is not likely to become airborne 2015. Available from: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/pdf/mutations.pdf>.
27. Choi JH, Croyle MA. Emerging targets and novel approaches to Ebola virus prophylaxis and treatment. *BioDrugs : clinical immunotherapeutics, biopharmaceuticals and gene therapy*. 2013;27(6):565-83.
28. Dziubanska PJ, Derewenda U, Ellena JF, Engel DA, Derewenda ZS. The structure of the C-terminal domain of the Zaire ebolavirus nucleoprotein. *Acta crystallographica Section D, Biological crystallography*. 2014;70(Pt 9):2420-9.

29. Lennemann NJ, Rhein BA, Ndungo E, Chandran K, Qiu X, Maury W. Comprehensive functional analysis of N-linked glycans on Ebola virus GP1. *mBio*. 2014;5(1):e00862-13.
30. Martines RB, Ng DL, Greer PW, Rollin PE, Zaki SR. Tissue and cellular tropism, pathology and pathogenesis of Ebola and Marburg viruses. *The Journal of Pathology*. 2015;235(2):153-74.
31. Hofmann-Winkler H, Kaup F, Pohlmann S. Host cell factors in filovirus entry: novel players, new insights. *Viruses*. 2012;4(12):3336-62.
32. Miller EH, Chandran K. Filovirus entry into cells - new insights. *Current opinion in virology*. 2012;2(2):206-14.
33. Harrison JS, Higgins CD, Chandran K, Lai JR. Designed protein mimics of the Ebola virus glycoprotein GP2 alpha-helical bundle: stability and pH effects. *Protein science : a publication of the Protein Society*. 2011;20(9):1587-96.
34. Adu-Gyamfi E, Soni SP, Jee CS, Digman MA, Gratton E, Stahelin RV. A loop region in the N-terminal domain of Ebola virus VP40 is important in viral assembly, budding, and egress. *Viruses*. 2014;6(10):3837-54.
35. Dessen A, Volchkov V, Dolnik O, Klenk HD, Weissenhorn W. Crystal structure of the matrix protein VP40 from Ebola virus. *The EMBO Journal*. 2000;19(16):4228-36.
36. Zachary A, Bornholdt TN, Dafna M, Abelson, Peter Halfmann, Malcom Wood, Yoshihiro Kawaoka, Erica Ollman Saphire. Structural Basis for ebolavirus matrix assembly and budding; protein plasticity allows multiple functions. *Cell*. 2013;154(4):763-74.
37. Mahanty S, Bray M. Pathogenesis of filoviral haemorrhagic fevers. *The Lancet Infectious diseases*. 2004;4(8):487-98.
38. Feldmann H, Geisbert TW. Ebola haemorrhagic fever. *Lancet*. 2011;377(9768):849-62.
39. CDC. Ebola virus disease information for clinicians in U.S. healthcare settings 2015. Available from: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/hcp/clinician-information-us-healthcare-settings.html>.
40. Ansari AA. Clinical features and pathobiology of Ebolavirus infection. *Journal of autoimmunity*. 2014;55:1-9.
41. Geisbert TW, Young HA, Jahrling PB, Davis KJ, Larsen T, Kagan E, et al. Pathogenesis of Ebola Hemorrhagic Fever in Primate Models : Evidence that Hemorrhage Is Not a Direct Effect of Virus-Induced Cytolysis of Endothelial Cells. *The American Journal of Pathology*. 2003;163(6):2371-82.
42. Eichner M, Dowell SF, Firese N. Incubation period of ebola hemorrhagic virus subtype zaire. *Osong public health and research perspectives*. 2011;2(1):3-7.

43. WHO. Travel and transport risk assessment: Guidance for public health authorities and the transport sector 2015. Available from:  
<http://www.who.int/csr/resources/publications/ebola/travel-guidance/en/>.
44. Peters CJ, Jahrling PB, Khan AS. Patients infected with high-hazard viruses: scientific basis for infection control. *Archives of virology Supplementum*. 1996;11:141-68.
45. Hartman AL, Towner JS, Nichol ST. Ebola and marburg hemorrhagic fever. *Clinics in laboratory medicine*. 2010;30(1):161-77.
46. Bwaka MA, Bonnet MJ, Calain P, Colebunders R, De Roo A, Guimard Y, et al. Ebola hemorrhagic fever in Kikwit, Democratic Republic of the Congo: clinical observations in 103 patients. *The Journal of infectious diseases*. 1999;179 Suppl 1:S1-7.
47. Kortepeter MG, Bausch DG, Bray M. Basic clinical and laboratory features of filoviral hemorrhagic fever. *The Journal of infectious diseases*. 2011;204 Suppl 3:S810-6.
48. MacNeil A, Farnon EC, Wamala J, Okware S, Cannon DL, Reed Z, et al. Proportion of deaths and clinical features in Bundibugyo Ebola virus infection, Uganda. *Emerging infectious diseases*. 2010;16(12):1969-72.
49. CDC. Viral Hemorrhagic Fevers 2015. Available from:  
<http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/spb/mnpages/dispages/vhf.htm>.
50. CDC. Case Definition for Ebola Virus Disease (EVD) [updated 16 November 2014]. Available from: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/healthcare-us/evaluating-patients/case-definition.html>.
51. CDC. Epidemiologic Risk Factors to Consider when Evaluating a Person for Exposure to Ebola Virus [updated 28 November 2014]. Available from:  
<http://www.cdc.gov/vhf/ebola/exposure/risk-factors-when-evaluating-person-for-exposure.html>.
52. CDC. <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/diagnosis/index.html> [updated February 2015]. Available from: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/diagnosis/index.html>.
53. Towner JS, Rollin PE, Bausch DG, Sanchez A, Crary SM, Vincent M, et al. Rapid Diagnosis of Ebola Hemorrhagic Fever by Reverse Transcription-PCR in an Outbreak Setting and Assessment of Patient Viral Load as a Predictor of Outcome. *Journal of Virology*. 2004;78(8):4330-41.
54. Leonard S. Containing Ebola: 7 Next-Gen Rapid Diagnostic Tests [11 March 2015]. Available from: <http://www.mddionline.com/article/containing-ebola-7-next-gen-rapid-diagnostic-tests-11-07-14>.
55. WHO. First Antigen Rapid Test for Ebola through Emergency Assessment and Eligible for Procurement February 2015. Available from: [http://www.who.int/medicines/ebola-treatment/1st\\_antigen\\_RT\\_Ebola/en/](http://www.who.int/medicines/ebola-treatment/1st_antigen_RT_Ebola/en/).

56. Rowe AK, Bertolli J, Khan AS, Mukunu R, Muyembe-Tamfum JJ, Bressler D, et al. Clinical, virologic, and immunologic follow-up of convalescent Ebola hemorrhagic fever patients and their household contacts, Kikwit, Democratic Republic of the Congo. *Commission de Lutte contre les Epidemies a Kikwit. The Journal of infectious diseases.* 1999;179 Suppl 1:S28-35.
57. CDC. Ebola virus disease: transmission 2015. Available from: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/transmission/index.html>.
58. WHO. What we know about transmission of the Ebola virus among humans 2015. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/news/ebola/06-october-2014/en/>.
59. Ksiazek TG, Rollin PE, Williams AJ, Bressler DS, Martin ML, Swanepoel R, et al. Clinical virology of Ebola hemorrhagic fever (EHF): virus, virus antigen, and IgG and IgM antibody findings among EHF patients in Kikwit, Democratic Republic of the Congo, 1995. *The Journal of infectious diseases.* 1999;179 Suppl 1:S177-87.
60. Sanchez A, Lukwiya M, Bausch D, Mahanty S, Sanchez AJ, Wagoner KD, et al. Analysis of human peripheral blood samples from fatal and nonfatal cases of Ebola (Sudan) hemorrhagic fever: cellular responses, virus load, and nitric oxide levels. *Journal of Virology.* 2004;78(19):10370-7.
61. Baize S, Leroy EM, Georges-Courbot MC, Capron M, Lansoud-Soukate J, Debre P, et al. Defective humoral responses and extensive intravascular apoptosis are associated with fatal outcome in Ebola virus-infected patients. *Nature medicine.* 1999;5(4):423-6.
62. Picazo E, Giordanetto F. Small molecule inhibitors of ebola virus infection. *Drug discovery today.* 2015;20(2):277-86.
63. WHO. Ethical considerations for use of unregistered interventions for Ebola virus disease (EVD) 12 August 2014. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2014/ebola-ethical-review-summary/en/>.
64. Bishop BM. Potential and emerging treatment options for Ebola virus disease. *The Annals of pharmacotherapy.* 2015;49(2):196-206.
65. Iversen PL, Warren TK, Wells JB, Garza NL, Mourich DV, Welch LS, et al. Discovery and early development of AVI-7537 and AVI-7288 for the treatment of Ebola virus and Marburg virus infections. *Viruses.* 2012;4(11):2806-30.
66. Till B. DARPA May Have a Way to Stop Ebola in Its Tracks 9 September 2014. Available from: <http://www.newrepublic.com/article/119376/ebola-drug-zmapp-darpa-program-could-get-it-africa>.

67. Qiu X, Wong G, Audet J, Bello A, Fernando L, Alimonti JB, et al. Reversion of advanced Ebola virus disease in nonhuman primates with ZMapp. *Nature*. 2014;514(7520):47-53.
68. McCarthy M. FDA allows second experimental drug to be tested in Ebola patients. *BMJ (Clinical research ed)*. 2014;349:g5103.
69. WHO. New trial of TKM-Ebola treatment to start in Sierra Leone 12 March 2015. Available from: <http://www.who.int/tdr/news/2015/trial-TKM-ebola-trmnt/en/>.
70. Warren TK, Wells J, Panchal RG, Stuthman KS, Garza NL, Van Tongeren SA, et al. Protection against filovirus diseases by a novel broad-spectrum nucleoside analogue BCX4430. *Nature*. 2014;508(7496):402-5.
71. Inc. BP. BioCryst Announces Study Results for BCX4430 in a Non-Human Primate Model of Ebola Virus Infection 23 December 2014. Available from: [http://article.wn.com/view/2014/12/23/BioCryst\\_Announces\\_Study\\_Results\\_for\\_BCX4430\\_in\\_a\\_NonHuman\\_P\\_x/](http://article.wn.com/view/2014/12/23/BioCryst_Announces_Study_Results_for_BCX4430_in_a_NonHuman_P_x/).
72. ClinicalTrials.gov. A Phase 1 Study to Evaluate the Safety, Tolerability and Pharmacokinetics of BCX4430 December 2014. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02319772?term=bcx4430&rank=1>.
73. WHO. One year into the Ebola epidemic: a deadly, tenacious and unforgiving virus [15 January 2015]. Available from: <http://www.who.int/csr/disease/ebola/one-year-report/introduction/en/>.
74. Incorporation C. Chimerix's Brincidofovir has in vitro activity against Ebola. Available from: <http://ir.chimerix.com/releasedetail.cfm?releaseid=868807>
75. Kroll D. Chimerix's Brincidofovir Given To Dallas, Nebraska Ebola Patients. Available from: <http://www.forbes.com/sites/davidkroll/2014/10/07/chimerixs-brincidofovir-given-to-dallas-nebraska-ebola-patients/>.
76. Oestereich L, Lütke A, Wurr S, Rieger T, Muñoz-Fontela C, Günther S. Successful treatment of advanced Ebola virus infection with T-705 (favipiravir) in a small animal model. *Antiviral Research*. 2014;105(0):17-21.
77. Caulderwood K. Chimerix Ebola Drug Brincidofovir Begins Testing In Liberia[8 January 2015]. Available from: <http://www.ibtimes.com/chimerix-ebola-drug-brincidofovir-begins-testing-liberia-1777636>.
78. Butler D. Ebola raises profile of blood-based therapy. *Nature*. 2015;517(7532):9-10.
79. Heald AE, Iversen PL, Saoud JB, Sazani P, Charleston JS, Axtelle T, et al. Safety and pharmacokinetic profiles of phosphorodiamidate morpholino oligomers with activity against



ebola virus and marburg virus: results of two single-ascending-dose studies. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2014;58(11):6639-47.

80. CDC. Ebola virus disease- Prevention [cited 2015]. Available from:

<http://www.cdc.gov/vhf/ebola/prevention/index.html>.

81. CDC. Fact Sheet: Screening and Monitoring Travelers to Prevent the Spread of Ebola [updated 6 January 2015]. Available from: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/travelers/ebola-screening-factsheet.html>.

82. Stanley DA, Honko AN, Asiedu C, Trefry JC, Lau-Kilby AW, Johnson JC, et al. Chimpanzee adenovirus vaccine generates acute and durable protective immunity against ebolavirus challenge. 2014;20(10):1126-9.

83. Jones SM, Feldmann H, Stroher U, Geisbert JB, Fernando L, Grolla A, et al. Live attenuated recombinant vaccine protects nonhuman primates against Ebola and Marburg viruses. *Nature medicine*. 2005;11(7):786-90.

84. Qiu X, Fernando L, Alimonti JB, Melito PL, Feldmann F, Dick D, et al. Mucosal immunization of cynomolgus macaques with the VSVDeltaG/ZEBOVGP vaccine stimulates strong ebola GP-specific immune responses. *PloS one*. 2009;4(5):e5547.

85. WHO. Ebola vaccine efficacy trial ready to launch in Guinea [5 March 2015]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2015/ebola-vaccine-trial/en/>.

86. GlaxoSmithKline's. Major milestone for GSK/NIH candidate Ebola vaccine as first doses shipped to Liberia for use in phase III clinical trial 23 January 2015. Available from: <http://www.gsk.com/en-gb/media/press-releases/2015/major-milestone-for-gsknih-candidate-ebola-vaccine-as-first-doses-shipped-to-liberia-for-use-in-phase-iii-clinical-trial/>.

87. Petersen W. *Outbreak*. USA: Warner Bros; 1995.

88. Sayenga K. *MicroKillers- Ebola*. USA: National Geographic Channel; 2005.

## **Agradecimentos**

À minha orientadora, a professora Carmen Lisboa, cuja ajuda, incentivo e disponibilidade, na realização desta monografia foram inestimáveis.

Ao meu co-orientador, o professor Acácio Rodrigues, pelas sugestões pertinentes e correcções da tese.

Às pessoas que trabalham no Departamento de Microbiologia, por serem sempre tão prestáveis e pela simpatia.

Aos meus pais, pilares na minha vida, que em mais uma etapa me apoiaram incondicionalmente.

Por fim, obrigada aos meus amigos pelo apoio demonstrado durante a elaboração deste trabalho. Em especial à Alexandra Barbosa, Celinha, Joaquim e Mariana Rodrigues.

## **ANEXOS:**

**1- NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA**

**2- LICENÇA DE REPRODUÇÃO DE IMAGENS**

# 1. NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA

## Objetivo e política editorial

A **Revista da Associação Médica Brasileira (RAMB)** é editada continuamente pela Associação Médica Brasileira desde 1954 e tem por objetivo publicar artigos que contribuam para o **conhecimento médico**. A RAMB é indexada nas bases de dados **SciELO**, Scopus, Science Citation Index Expanded (SCIE), Web of Science, Institute for Scientific Information (**ISI**), Index Copernicus, LILACS, MEDLINE e CAPES - **QUALIS B3**. Atualmente, a revista é produzida em seis edições por ano, além de contar com a versão **online** de **livre acesso** na internet (**www.ramb.org.br**). A revista impressa é publicada na língua original em que o artigo foi submetido (são aceitos manuscritos em **português, inglês ou espanhol**). O conteúdo integral da revista, na língua inglesa, é publicado simultaneamente na versão **online** (**www.ramb.org.br**)

A Revista aceita para publicação artigos nas seguintes categorias: Artigos Originais, Revisões, Correspondências, Ponto de Vista, Panorama Internacional, à Beira do Leito, e Imagem em Medicina. O conselho Editorial recomenda fortemente que os autores leiam a versão online da RAMB e analisem os artigos já publicados como modelo para a elaboração de seus trabalhos.

Os artigos poderão ser escritos em português, espanhol ou na língua inglesa, nos dois últimos casos. Cada artigo, acompanhado de correspondência ao editor, deverá conter título, nome completo do (s) autor (es), instituição na qual o trabalho foi realizado e seção da Revista à qual se destina.

## Estilo e preparação de originais

O trabalho deverá ser redigido em corpo 12, no máximo em 15 laudas de 30 linhas cada, espaço 1,5 linha, com margem de 3cm de cada lado, no topo e no pé de cada página. Todas as páginas, excluída a do título, devem ser numeradas.

## Página título

Deverá conter:

- a)** O título do trabalho, também na versão em inglês, deverá ser conciso e não exceder 75 toques ou uma linha
- b)** nome, sobrenome do autor e instituição a qual pertence o autor;
- c)** nome e endereço da instituição onde o trabalho foi realizado;
- d)** Carta de apresentação, contendo assinatura de todos os autores, responsabilizando-se pelo conteúdo do trabalho, porém apenas um deve ser indicado como responsável pela troca de correspondência. Deve conter telefone, fax, e endereço para contato.
- e)** Aspectos éticos. Carta dos autores revelando eventuais conflitos de interesse (profissionais, financeiros e benefícios diretos ou indiretos) que possam influenciar ter influenciado os resultados da pesquisa ou o conteúdo do trabalho. Na carta deve constar ainda, quando cabível, a data da aprovação do trabalho pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição à qual estão vinculados os autores.

## **Itens dos artigos**

Os artigos originais deverão conter, obrigatoriamente, *Introdução, Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões e Referências Bibliográficas*.

## **Notas de rodapé**

Só as estritamente necessárias; devem ser assinaladas no texto e apresentadas em folha separada após a do resumo, com subtítulo nota de *rodapé*.

## **AGRADECIMENTOS**

Apenas a quem colabore de modo significativo na realização do trabalho. Devem vir antes das referências bibliográficas.

## **RESUMO/SUMMARY**

O resumo, com no máximo 250 palavras, deverá conter *objetivo, métodos, resultados e conclusões*. Após o resumo deverão ser indicados, no máximo, seis Unitermos (recomenda-se o vocabulário controlado do Decs-Descritores em Ciências da Saúde, publicação da Bireme - Centro Latino Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde ([www.bireme.br/terminologiaensaude](http://www.bireme.br/terminologiaensaude))). Para os termos em inglês recomenda-se o MeSH da base Medline. O *Summary* visa permitir a perfeita compreensão do artigo. Apresentado em folha separada, seguir o mesmo modelo do resumo: *Background, Methods, Results, Conclusions*. Deve ser seguido de *Key words*.

Artigos escritos em português devem conter, na segunda página, dois resumos: um em português e outro em inglês (*Summary*). Artigos escritos em espanhol devem apresentar resumos em inglês (*Summary*) e português. Os escritos em inglês devem conter resumo também em português.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

As referências bibliográficas devem ser dispostas por ordem de entrada no texto e numeradas consecutivamente, sendo obrigatória sua citação.

Devem ser citados todos os autores, quando até seis; acima deste número, citam-se os seis primeiros seguidos de et al. O periódico deverá ter seu nome abreviado de acordo com a LIST OF JOURNALS INDEXED IN INDEX MEDICUS do ano corrente, disponível também on-line nos sítios: [www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html](http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html) ou [www.nlm.nih.gov/citingmedicine](http://www.nlm.nih.gov/citingmedicine) ou, se não for possível, a Associação de Normas Técnicas (ABNT).

## **CITAÇÕES BIBLIOGRÁFICAS**

As citações bibliográficas no texto devem ser numeradas com algarismos arábicos sobrescritos, na ordem em que aparecem no texto. Exemplo: Até em situações de normoglicemia<sup>6</sup> ...

## **FIGURAS, TABELAS, GRÁFICOS, ANEXOS**

No original deverão estar inseridos tabelas, fotografias, gráficos, figuras ou anexos. Devem ser apresentados apenas quando necessários, para a efetiva compreensão do texto e dos dados, totalizando no MÁXIMO TRÊS.

- a) As figuras, sempre em preto e branco, devem ser originais e de boa qualidade. As letras e símbolos devem estar na legenda.
- b) As legendas das figuras e tabelas devem permitir sua perfeita compreensão, independente do texto.
- c) As tabelas, com título e legenda, deverão estar em folhas individuais.
- d) É preciso indicar, em cada figura, o nome do primeiro autor e o número da figura. Figuras e tabelas deverão ser numeradas separadamente, usando algarismo arábico, na ordem em que aparecem no texto.

## **ABREVIÇÕES/NOMENCLATURA**

O uso de abreviações deve ser mínimo. Quando expressões extensas precisam ser repetidas, recomenda-se que suas iniciais maiúsculas as substituam após a primeira menção. Esta deve ser seguida das iniciais entre parênteses. Todas as abreviações em tabelas e figuras devem ser definidas nas respectivas legendas.

Apenas o nome genérico do medicamento utilizado deve ser citado no trabalho.

## **TERMINOLOGIA**

Visando o emprego de termos oficiais aos trabalhos publicados, a Revista da Associação Médica Brasileira adota a Terminologia Anatômica Oficial Universal, aprovada pela Federação Internacional de Associações de Anatomistas (FIAA). As indicações bibliográficas para consulta são as seguintes: FCAT - IFAA (1998) - International Anatomical Terminology - Stuttgart- Alemanha - Georg Thieme Verlag ou CTA-SBA (2001) - Terminologia Anatômica . S. Paulo. Editora Manole.

## 2. LICENÇA DE REPRODUÇÃO DE IMAGENS

### ELSEVIER LICENSE TERMS AND CONDITIONS

Mar 16, 2015

---

---

This is a License Agreement between Daniela Pacheco ("You") and Elsevier ("Elsevier") provided by Copyright Clearance Center ("CCC"). The license consists of your order details, the terms and conditions provided by Elsevier, and the payment terms and conditions.

License Number	3590970763226
License date	Mar 16, 2015
Licensed content publisher	Elsevier
Licensed content publication	Microbes and Infection
Licensed content title	Development of therapeutics for treatment of Ebola virus infection
Licensed content author	None
Licensed content date	February 2015
Licensed content volume number	17
Licensed content issue number	2
Number of pages	9
Type of Use	reuse in a thesis/dissertation
Portion	figures/tables/illustrations
Number of figures/tables/illustrations	1
Format	both print and electronic
Are you the author of this Elsevier article?	No
Will you be translating?	Yes
Number of languages	1
Languages	Portuguese
Original figure numbers	Figure 2
Title of your thesis/dissertation	Vírus Ébola- de ameaça negligenciada ao estado de emergência global
Expected completion date	Mar 2015
Estimated size (number of pages)	20
Elsevier VAT number	GB 494 6272 12
Permissions price	0.00 EUR
VAT/Local Sales Tax	0.00 EUR / 0.00 GBP
Total	0.00 EUR

## SPRINGER LICENSE TERMS AND CONDITIONS

Mar 16, 2015

---

---

This is a License Agreement between Daniela Pacheco ("You") and Springer ("Springer") provided by Copyright Clearance Center ("CCC"). The license consists of your order details, the terms and conditions provided by Springer, and the payment terms and conditions.

License Number	3590970308694
License date	Mar 16, 2015
Licensed content publisher	Springer
Licensed content publication	BioDrugs
Licensed content title	Emerging Targets and Novel Approaches to Ebola Virus Prophylaxis and Treatment
Licensed content author	Jin Huk Choi
Licensed content date	Jan 1, 2013
Volume number	27
Issue number	6
Type of Use	Thesis/Dissertation
Portion	Figures
Author of this Springer article	No
Order reference number	None
Original figure numbers	Figure 1
Title of your thesis / dissertation	virus Ébola- de ameaça negligenciada ao estado de emergência global
Expected completion date	Mar 2015
Estimated size(pages)	20
Total	0.00 EUR