



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO
GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO
INTEGRADO EM MEDICINA**

VÂNIA FILIPA SANTOS ALMEIDA

***ÉBOLA: REVISÃO INTEGRADA E ATUALIZADA À
LUZ DAS MAIS RECENTES EVIDÊNCIAS
EPIDEMIOLÓGICAS***

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE INFECIOLOGIA

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:
PROFESSOR DOUTOR ANTÓNIO ABEL MELIÇO-SILVESTRE**

SETEMBRO/2015

Abstract

Since the end of 2013, West Africa has been suffering the largest Ebola virus outbreak in recorded history. The virus causing this outbreak, *Zaire Ebolavirus*, belongs to the genus *Ebolavirus* which, together with the genus *Marburgvirus* and the recently discovered genus *Cuevavirus*, forms the family of the *Filoviridae*. Despite Ebola virus is associated with outbreaks of severe febrile illness and high fatality rates in humans since 1976 this outbreak differs dramatically from prior outbreaks in its duration, number of people affected, and geographic extent. The potential for such an epidemic to spread beyond Africa has raised concern in the world community and has highlighted the need to review the characteristics of the virus and the disease, specifically our current understanding of the transmission dynamics, clinical and main pathogenic features. Also, an extraordinary worldwide effort was made to establish new diagnostic and therapeutic strategies and methods that would lead to better and faster control of the current and future outbreaks. This review aims to provide an actualized overview of Ebola virus disease for clinicians, with the emphasis on transmission, clinical manifestations and current candidate therapies and vaccines against Ebola virus disease. Finally, and because the West Africa outbreak moves toward the final stages, it is time to evaluate the work done, consider the importance of remaining work and take heed of lessons learned in prevention and preparation for future outbreaks of Ebola or any other disease.

Key words:

Ebola virus disease, Filovirus, Epidemic, Transmission, Zoonotic, Epidemiology, Outbreaks, Treatment, Vaccine, Review

Resumo

O Ocidente Africano tem sido confrontado, desde o final de 2013, com o maior surto de doença por vírus Ébola desde que há registo. O vírus responsável pela epidemia, *Zaire Ebolavirus*, pertence ao género *Ebolavirus*, que juntamente com o género *Marburgvirus* e o mais recente género descrito, *Cuevavirus*, constituem a família *Filoviridae*. Apesar de o vírus Ébola ter sido responsável por vários surtos de febre hemorrágica com elevadas taxas de letalidade em humanos desde 1976, o surto atual difere radicalmente dos anteriores em termos de duração, número de infetados e extensão geográfica. O potencial para a epidemia se disseminar para além do continente Africano gerou preocupações a nível global e veio realçar a necessidade de rever as características do vírus e da doença, nomeadamente a dinâmica de transmissão e as principais características clínicas e de patogenicidade. Além disso foi notório um tremendo esforço global para estabelecer novos métodos e estratégias de diagnóstico e de terapêutica conducentes a um mais rápido e eficaz controlo da epidemia atual e também de surtos futuros. Este trabalho pretende por isso apresentar uma revisão atualizada da doença por vírus Ébola dirigida aos médicos, com ênfase na transmissão, manifestações clínicas, medidas terapêuticas e perspectivas de vacinas. Finalmente, e porque a epidemia se aproxima do final, é tempo de avaliar o trabalho realizado, perceber o que falta ainda fazer e não deixar esquecer as lições importantes que esta epidemia nos ensinou na preparação e prevenção de surtos futuros, quer sejam provocados pelo Ébola ou por qualquer outro agente.

Palavras-chave:

Doença por vírus Ébola, Filovírus, Epidemia, Transmissão, Zoonose, Epidemiologia, Surtos, Tratamento, Vacina, Revisão

Índice

Abstract	II
Resumo	III
1 Introdução	1
2 O vírus Ébola	3
2.1 Filogenia	3
2.2 Espécies	4
2.3 Genoma e Estrutura	6
2.4 Ciclo de Vida	8
3 A doença por vírus Ébola	10
3.1 Perspetiva Histórica	10
3.1.1 Surtos Prévios.....	10
3.1.2 Epidemia de 2014 no Ocidente Africano	13
3.2 Transmissão	17
3.2.1 Infecção Animal-Humano.....	17
3.2.2 Infecção Humano-Humano	19
3.3 Patogénese	22
3.4 Clínica	24
3.4.1 Dados Epidemiológicos.....	24
3.4.2 Manifestações Clínicas Precoces	25
3.4.3 Manifestações Clínicas Tardias.....	26
3.4.4 Análises Laboratoriais.....	28
3.4.5 Complicações e Sequelas	29
3.5 Diagnóstico	31
3.5.1 Métodos de Diagnóstico.....	32
3.6 Tratamento	37
3.6.1 Terapêutica de Suporte.....	37
3.6.2 Terapêutica Dirigida.....	37
3.7 Vacinas	42
4 Conclusão	44
5 Agradecimentos	48
Referências Bibliográficas	49

1 Introdução

O Ébola é um vírus conhecido há cerca de 40 anos que periodicamente provoca doença em humanos com efeitos devastadores. Até à epidemia de 2014, no entanto, o vírus era considerado uma doença tropical relativamente negligenciada e não extensivamente investigada uma vez que os surtos se mantinham limitados temporal e espacialmente, sendo debelados numa questão de semanas a meses. A epidemia de 2014 na África Ocidental, ainda a decorrer à data da redação do trabalho, apresentou-se de forma muito diferente dos surtos previamente conhecidos. Trata-se da maior epidemia de Ébola desde que há registo, com um número de infetados e de mortes superior à soma das ocorridas em todos os surtos anteriores e com uma expansão territorial também sem precedentes. A epidemia teve um tremendo impacto em todo o Mundo, transversal a todos os sectores da sociedade, discutindo-se o Ébola não só de uma perspetiva médico-científica mas também como uma problemática social, económica e até de segurança nacional. Na tentativa de responder a este grave problema global surgiu muita investigação em torno do vírus e da doença por ele provocada que teve como consequência um enorme progresso no estado de conhecimento atual. No entanto, e mesmo após meses em que o Ébola foi amplamente divulgado pela comunicação social e pelas autoridades da saúde, impondo-se na vida de todos os cidadãos, existem ainda dúvidas relativas a aspetos essenciais à compreensão do vírus e da doença, talvez resultado da elevadíssima quantidade de informação difundida ao longo do último ano. Esta revisão pretende por isso clarificar o tema proporcionando uma visão ampla, atualizada à luz da recente investigação. Tentando ser abrangente o trabalho não tem contudo pretensões de atingir um nível de pormenor muito elevado relativamente a todos os temas abordados; pretende sim apresentar conceitos e clarificar questões essenciais que são do interesse de todos os cidadãos mas muito em particular da classe médica. Ao médico interessa estar ao corrente do tema não só pela possibilidade de ter que interagir de perto com a doença mas também para poder avaliar os diferentes cenários num futuro imediato. Para isso é não só

necessário conhecer os aspetos mais técnicos, como a estrutura do vírus e alguns detalhes moleculares, mas também compreender um pouco da origem e história do vírus e das epidemias, razão pela qual estes temas são abordados na revisão. Com as novas descobertas que se adivinham para breve, em particular no campo da terapêutica e profilaxia, interessa também ter bases para poder facilmente perceber e integrar novos conceitos. Não menos importante é o papel do médico como veículo de informação à restante população, com forte impacto na prevenção da doença e na promoção da saúde, o que só pode ser alcançado com uma base científica clara e atualizada sobre a dinâmica do vírus no ambiente e da sua transmissão entre animais e aos humanos.

O estudo do Ébola apresenta-se ainda como uma oportunidade única uma vez que se trata de uma doença cuja recente epidemia fez com que cruzasse a linha entre doença tropical negligenciada para se tornar uma doença emergente. Estes eventos inesperados relembram-nos a vulnerabilidade da espécie humana, mas são também oportunidades de aprendizagem e de preparação para epidemias futuras, causadas por este ou por outros agentes.

2 O vírus Ébola

2.1 Filogenia

O vírus Ébola (género *Ebolavirus*) pertence à ordem *Mononegavirales*, da família *Filoviridae*. Os filovírus são os agentes etiológicos de graves febres hemorrágicas em humanos e primatas não humanos, com taxas de letalidade frequentemente superiores a 50% entre os casos sintomáticos, que variam consoante o vírus em causa e a via de transmissão.

O nome da família deriva do latim “filum” uma vez que à observação no microscópio eletrónico o virião apresenta uma forma filamentar ¹. Além do género *Ebolavirus* a família compreende ainda o género *Marburgvirus*, que comporta os vírus Marburg e Ravn, e um terceiro género recentemente introduzido, *Cuevavirus*, representado pela espécie *Lloviu cuevavirus* isolada recentemente em morcegos em Cueva del Lloviu (Espanha) ².

O género *Ebolavirus* é composto por cinco espécies que diferem a nível genómico e na resposta imunitária que evocam, nomeadas de acordo com o local de onde foram isoladas pela primeira vez: *Zaire Ebolavirus*, *Sudan Ebolavirus*, *Tai Forest Ebolavirus* (previamente conhecida por *Ivory Coast Ebolavirus*), *Bundibugyo Ebolavirus* e *Reston Ebolavirus*. Cada espécie tem um vírus membro, também designado por *tipo* de vírus: Ebola virus (EBOV), Sudan virus (SUDV), Tai Forest virus (TAFV), Bundibugyo virus (BDBV) e Reston virus (RESTV), respetivamente (**Tabela 1**).

À exceção do vírus Reston, de origem Asiática ³, e do mais recente membro da família, o vírus Lloviu, a família *Filoviridae* tem origem Africana. É certo que a sua origem não é recente, mas as estimativas mais concretas da idade dos filovírus são muito díspares, variando desde há alguns milhares de anos ⁴ até alguns milhões de anos atrás ⁵. De acordo com um dos modelos o mais recente ancestral comum desta família existiu há cerca de 10000 anos, o que corresponde ao fim da última idade do gelo no planeta. O mesmo estudo aponta para que a espécie *Sudan Ebolavirus* tenha sofrido especiação há cerca de 850 anos atrás, mas indica que as espécies

Reston ebolavirus e *Zaire ebolavirus* sejam muito mais novas, situando os seus mais recentes ancestrais comuns há cerca de 50 anos ⁶.

Tabela 1 – Taxonomia e nomenclatura dos filovírus. Adaptada de ⁷

Ordem <i>Mononegavirales</i>
Família <i>Filoviridae</i>
Género <i>Marburgvirus</i>
Espécie <i>Marburg marburgvirus</i>
Vírus Marburg (MARV)
Vírus Ravn (RAVV)
Género <i>Ebolavirus</i>
Espécie <i>Tai Forest ebolavirus</i>
Vírus Tai Forest (TAFV)
Espécie <i>Reston ebolavirus</i>
Vírus Reston (RESTV)
Espécie <i>Sudan ebolavirus</i>
Vírus Sudan (SUDV)
Espécie <i>Zaire ebolavirus</i>
Vírus Ébola (EBOV)
Espécie <i>Bundibugyo ebolavirus</i>
Vírus Bundibugyo (BDBV)
Género <i>Cuevavirus</i>
Espécie <i>Lloviu cuevavirus</i>
Vírus Lloviu (LLOV)

2.2 Espécies

Apenas os vírus EBOV, SUDV, TAFV e BDBV causam doença em humanos; o RESTV, identificado em Reston (VA, EUA) a partir de macacos importados das Filipinas ³, causa febre hemorrágica com elevada mortalidade em primatas não humanos ⁸. Esta espécie foi também

identificada em suínos, geralmente em coinfeção com vírus porcinos respiratórios e reprodutivos, não estando ainda esclarecido o seu potencial patogénico nestes animais.

De entre os vírus que provocam doença em humanos o EBOV é o mais virulento, com taxas de letalidade que atingiram os 90% em surtos prévios. Foi a primeira espécie do género a ser identificada e é responsável pela maioria dos surtos ocorridos e também pela epidemia atual, e por isso sem dúvida a mais extensamente estudada.

Após a sua identificação no Sudão do Sul em 1976 a espécie SEBOV foi responsável por outro surto em 1979. O vírus desapareceu depois por mais de 20 anos, até originar no Uganda em 2001/2002 a segunda maior epidemia de Ébola desde que há registo (sendo a maior a que decorre atualmente). A distribuição geográfica desta espécie é relativamente limitada quando comparada ao *Zaire Ebolavirus*, uma vez que os 5 surtos de doença por SEBOV ocorreram numa extensão inferior a 700 Km. Este pode ser um reflexo da distribuição do seu reservatório natural ou de outros constrangimentos ecológicos ainda desconhecidos ⁶.

A espécie *Tai Forest Ebolavirus* (TAFV) foi isolada em 1994 num primatologista após ter realizado uma necrópsia a um chimpanzé na reserva Nacional do Parque Tai, tendo o investigador sobrevivido ⁹. Até à data este é o único caso de doença por TAFV descrito em humanos.

Finalmente a espécie BEV foi descrita em 2007, no Uganda ¹⁰, surto este com uma taxa de letalidade de cerca de 40% de entre os casos confirmados laboratorialmente. Em 2012 ocorreu um novo surto, com menos vítimas confirmadas. Não foram descritas diferenças clínicas em relação às restantes espécies ¹¹.

2.3 Genoma e Estrutura

O genoma dos filovírus é composto por Ácido Ribonucleico (ARN) não segmentado de sentido negativo. O vírus Ébola codifica 7 proteínas estruturais: nucleoproteína (NP), cofator da polimerase (VP35), proteína da matriz (VP40), glicoproteína de superfície (GP), proteína da replicação-transcrição (VP30), proteína *minor* da matriz (VP24) e polimerase de ARN dependente de ARN, também designada por proteína *large* (L) (**Figura 1**). O vírus expressa ainda uma glicoproteína truncada solúvel (sGP) que é secretada em grandes quantidades para o espaço extracelular a partir de células infectadas ¹². A função desta proteína solúvel é possivelmente a evasão imunitária e consequente evicção de uma resposta imunitária precoce e efetiva ¹³, embora tenha também sido sugerida uma função estrutural em situações particulares¹⁴.



Figura 1 – Organização básica do genoma do vírus Ébola. As funções básicas das proteínas são descritas no texto. Através de *editing* ou edição de ARN o 4º gene do genoma codifica 3 proteínas de diferentes tamanhos e funções: a glicoproteína de superfície (GP_{1,2}), a glicoproteína solúvel na sua forma precursora (pre-sGP) e uma glicoproteína mais pequena de função incerta mas também secretada pela célula (ssGP). NP: nucleoproteína, VP: proteína do virião, sGP/GP: glicoproteína solúvel/glicoproteína, L: *large protein*. Retirada de ¹²

A NP liga-se ao ARN do vírus formando longos filamentos helicoidais que constituem o “molde” da nucleocápside. Esta estrutura estriada de simetria helicoidal com 50 nm de diâmetro protege o ARN viral da resposta imunitária do hospedeiro e faz com que o genoma seja resistente a ribonucleases. A nucleocápside inclui também as proteínas estruturais VP35, VP30, VP24 e a polimerase ¹⁵. Os oligómeros da NP interagem com a proteína da matriz VP40 permitindo o recrutamento da nucleocápside para os viriões filhos ¹⁶. No folheto interno do

envelope as proteínas da matriz VP40 e VP24 fornecem suporte estrutural ao virião. A NP é ainda essencial para a produção de ARN uma vez que se liga às proteínas VP35 e VP30 que por sua vez interagem com a polimerase para formar o complexo de replicação do vírus ¹⁷.

Os viriões exibem um diâmetro uniforme de 80 nm e apresentam comprimento variável de 600 a 14000 nm, sendo os viriões com 805 nm os que apresentam maior infecciosidade ¹⁸. A sua estrutura básica é longa e filamentosa, mas por vezes podem apresentar-se em forma de “U” ou “6”. À superfície do envelope tubular membranoso apresentam projeções compostas pela GP. A glicoproteína madura é composta de duas subunidades, GP₁ e GP₂ (resultantes da clivagem da GP_{1,2}) que heterodimerizam através de pontes dissulfido. Estes heterodímeros associam-se formando trímeros ou *spikes* com 10 nm de comprimento que desempenham um papel fundamental na adesão e entrada do vírus na célula hospedeira (**Figura 2**).

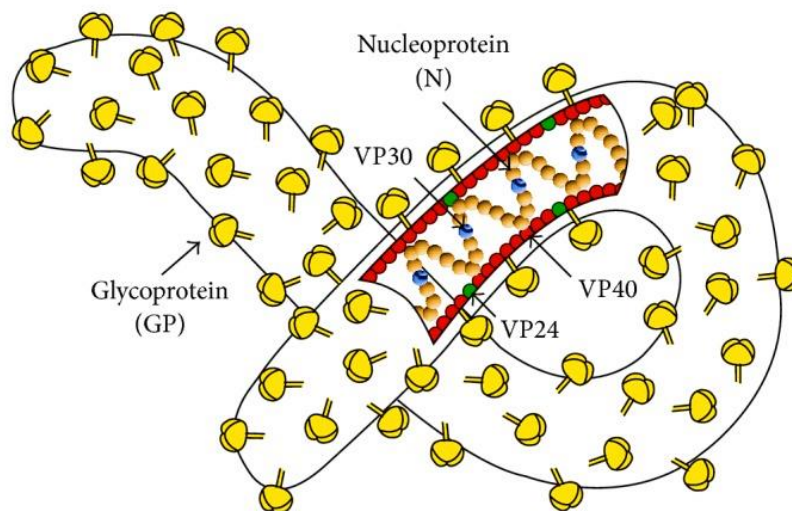


Figura 2 – Representação esquemática do virião Ébola. À superfície do virião existem *spikes* ou trímeros constituídos pela glicoproteína de superfície. Através da “janela” é mostrado o ARN de sentido negativo coberto pela NP e pela VP30. Retirada de ¹⁹

2.4 Ciclo de Vida

A entrada do vírus nas células é mediada pelo *spike* viral que se liga a recetores existentes à superfície das células suscetíveis. Apesar da extensa investigação neste campo não foi ainda possível determinar com certeza a identidade desses recetores, havendo porém numerosos potenciais candidatos, como por exemplo as integrinas $\beta 1$ ²⁰. Não há também certezas no que respeita ao mecanismo de entrada do vírus na célula, sendo no entanto a macropinocitose uma das hipóteses que reúne maior consenso²¹. O papel de *lipid rafts* na entrada do vírus (e potencialmente também de saída) tem também sido investigado com dados promissores²². De qualquer forma após a internalização está estabelecido que o vírus utiliza a via endossômica convencional. É nos endossomas/lisossomas que as proteases de cistina catepsina B e catepsina L digerem a GP₁ à sua forma GP₂²³, essencial para a fusão das membranas viral e celular. A atividade das catepsinas não é contudo necessária na infeção de todos os tipos celulares, uma vez que a infeção por Ébola em células dendríticas dispensa estas proteases²⁴. No lisossoma a GP₂ interage com a proteína transportadora de colesterol Niemann-Pick C1 (NPC1), levando à libertação da nucleocápside para o citoplasma da célula infetada²⁵. Outras proteínas, como as do complexo *Homotypic fusion and vacuole protein sorting* (HOPS), necessárias à fusão dos endossomas a lisossomas, são também essenciais à patofisiologia do vírus, o que se comprova pelo facto de que células sem este complexo serem resistentes à infeção pelo vírus²⁶.

Com a nucleocápside no citoplasma o genoma do vírus é replicado e copiado em antígenomas (ARN de sentido positivo) que são depois transcritos em cadeias de ARN de sentido negativo para serem integrados na progenia viral. Após a tradução as novas proteínas estruturais acumulam-se, juntamente com os novos genomas, debaixo da membrana celular onde o vírus é libertado. Durante o *budding* os viriões adquirem envelopes provenientes da membrana celular. Os novos viriões infetam novas células, criando um ciclo de infeção²⁷. Na **Figura 3** encontram-se esquematizados os principais eventos que ocorrem durante a infeção pelo vírus Ébola.

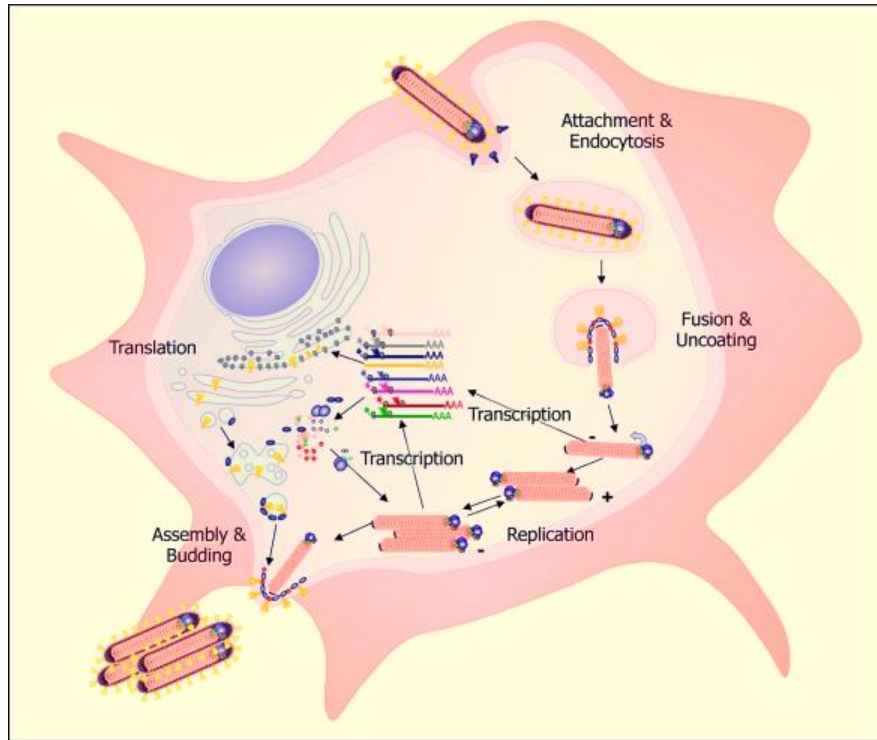


Figura 3 – Principais acontecimentos na infecção por filovírus. Retirada de ²⁷

3 A doença por vírus Ébola

3.1 Perspetiva Histórica

3.1.1 Surtos Prévios

O vírus Ébola foi identificado pela primeira vez no âmbito de uma expedição com vista a determinar a doença responsável por um grave surto de febre hemorrágica que em 1976 assolava o Sul da República Democrática do Congo, antigo Zaire. Algumas amostras biológicas foram recolhidas e transportadas para o Instituto de Medicina Tropical de Antuérpia (Bélgica), onde em setembro desse ano o Dr. Peter Piot e colaboradores identificaram o agente responsável pelo surto, um vírus filamentosso nunca antes descrito²⁸. O nome atribuído a esse agente, Ébola, deve-se à proximidade entre o local onde foram identificados os primeiros casos da doença e o rio Ébola. Simultaneamente, a cerca de 800 km de distância, decorria no Sudão do Sul outra epidemia de febre hemorrágica, que teve também como agente etiológico um vírus Ébola²⁹. Estas foram as duas primeiras epidemias comprovadamente atribuídas ao Género *Ebolavirus*, provocadas respetivamente por duas espécies diferentes, *Zaire Ebolavirus* e *Sudan Ebolavirus*, facto este que foi apenas reconhecido anos mais tarde. Apesar de estes surtos terem sido os primeiros a ocorrer numa época com tecnologia suficiente para determinar com certeza a sua etiologia, é consensual que o Ébola terá causado epidemias prévias. Uma dessas terá sido a ocorrida em Atenas em 430 AC, uma epidemia importada do continente Africano com importante mortalidade, e que de acordo com os registos da época terá provocado grandes alterações sociais e demográficas³⁰.

Nos quase 40 anos que decorreram desde a sua identificação o vírus tem reemergido periodicamente. À exceção de alguns casos isolados noutras partes do continente Africano os surtos têm sido localizados à África Central (**Figura 4**), nunca envolvendo mais do que 500 casos (**Tabela 2**).

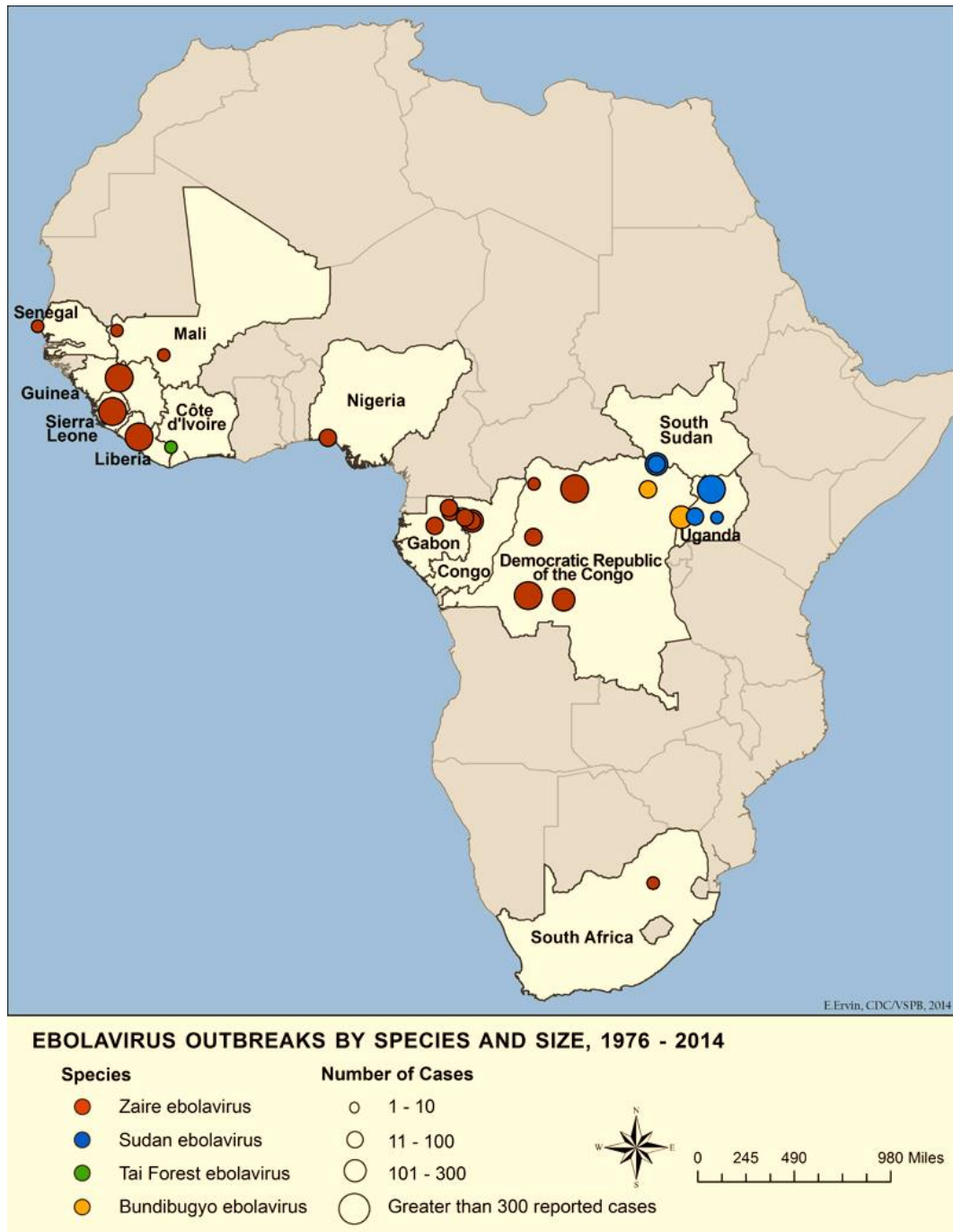


Figura 4 – Localização geográfica dos surtos de Ébola ocorridos desde 1976. Adaptado de ³¹

Tabela 2 – Cronologia dos casos de doença por vírus Ébola em humanos. Adaptada de ³¹

Data	Países afetados	Espécie	Nº de Casos	Nº de mortes Taxa de letalidade
agosto - novembro 2014	República Democrática do Congo	<i>Zaire ebolavirus</i>	66	49 (74%)
março 2014 - presente	Guiné Conacri, Serra Leoa, Libéria, Nigéria, Senegal, Espanha, EUA, Mali, Reino Unido, Itália	<i>Zaire ebolavirus</i>	28041*	11302*
novembro 2012 - janeiro 2013	Uganda	<i>Sudan ebolavirus</i>	6**	3** (50%)
junho - novembro 2012	República Democrática do Congo	<i>Bundibugyo ebolavirus</i>	36**	13** (36.1%)
junho - outubro 2012	Uganda	<i>Sudan ebolavirus</i>	11**	4** (36.4%)
maio 2011	Uganda	<i>Sudan ebolavirus</i>	1	1 (100%)
dezembro 2008 - fevereiro 2009	República Democrática do Congo	<i>Zaire ebolavirus</i>	32	15 (47%)
dezembro 2007- janeiro 2008	Uganda	<i>Bundibugyo ebolavirus</i>	149	37 (25%)
2007	República Democrática do Congo	<i>Zaire ebolavirus</i>	264	187 (71%)
2004	Rússia	<i>Zaire ebolavirus</i>	1	1 (100%)
2004	Sudão do Sul	<i>Sudan ebolavirus</i>	17	7 (41%)
novembro - dezembro 2003	República do Congo	<i>Zaire ebolavirus</i>	35	29 (83%)
dezembro 2002 - abril 2003	República do Congo	<i>Zaire ebolavirus</i>	143	128 (89%)
outubro 2001 - março 2002	República do Congo	<i>Zaire ebolavirus</i>	57	43 (75%)
outubro 2001 - março 2002	Gabão	<i>Zaire ebolavirus</i>	65	53 (82%)
2000-2001	Uganda	<i>Sudan ebolavirus</i>	425	224 (53%)
1996	Rússia	<i>Zaire ebolavirus</i>	1	1 (100%)
1996	África do Sul	<i>Zaire ebolavirus</i>	2	1 (50%)
julho 1996 / janeiro 1997	Gabão	<i>Zaire ebolavirus</i>	60	45 (74%)
janeiro - abril 1996	Gabão	<i>Zaire ebolavirus</i>	37	21 (57%)
1995	República Democrática do Congo	<i>Zaire ebolavirus</i>	315	250 (81%)
1994	Costa do Marfim	<i>Tai Forest ebolavirus</i>	1	0
1994	Gabão	<i>Zaire ebolavirus</i>	52	31 (60%)
1979	Sudão do Sul	<i>Sudan ebolavirus</i>	34	22 (65%)
1977	Zaire	<i>Zaire ebolavirus</i>	1	1 (100%)
1976	Inglaterra	<i>Sudan ebolavirus</i>	1	0
1976	Sudão do Sul	<i>Sudan ebolavirus</i>	284	151 (53%)
1976	Zaire	<i>Zaire ebolavirus</i>	318	280 (88%)

*Dados do CDC a 23 de agosto de 2015

**Apenas casos confirmados laboratorialmente

3.1.2 Epidemia de 2014 no Ocidente Africano

3.1.2.1 Epidemiologia

A epidemia de Ébola de 2014 tem sido muito diferente das restantes, com um número de casos registados muito superior ao dos surtos prévios, além da expansão geográfica e da duração sem precedentes.

O caso índice da epidemia foi um menino de 2 anos em Meliandou, uma pequena aldeia perto de Guéckédou, no sudoeste da Guiné Conacri. A exposição ocorreu provavelmente em dezembro de 2013 quando a criança brincava numa árvore que servia de abrigo a uma colónia de morcegos. A criança faleceu 4 dias depois, após ter presumivelmente infetado 5 pessoas ³².

Ao contrário do que aconteceu noutras epidemias ³³ é pouco provável que a exposição contínua ao reservatório animal tenha contribuído para a epidemia, ou seja, este evento zoonótico foi o único, sendo que todos os casos subsequentes foram infetados através de transmissão interpessoal.

O vírus disseminou-se depois à capital, Conacri, e aos países vizinhos Serra Leoa, Libéria, Nigéria, Senegal e Mali. A 23 de março de 2014, 3 meses após os primeiros casos da doença, a Organização Mundial de Saúde (OMS) publicou uma notificação formal no seu *website* reportando a ocorrência de um surto de doença. A 8 de agosto a doença por Ébola foi declarada pela Diretora-Geral da OMS, Margaret Chan, uma “situação de emergência de saúde pública de âmbito internacional”, o que segundo alguns intervenientes diretos na epidemia foi uma resposta tardia que contribuiu para a grande disseminação do vírus ³⁴. Várias outras razões foram avançadas para a epidemia não ter sido contida nos estádios iniciais, nomeadamente (i) um sistema de vigilância não eficaz na deteção e notificação do início do surto, (ii) a negação do início da epidemia por entidades oficiais locais, (iii) um sistema de saúde frágil e sem recursos, (iv) práticas culturais propícias à disseminação, tais como rituais fúnebres tradicionais, e (v) fluxos migratórios intensos entre centros urbanos e meios rurais e também

entre fronteiras ³⁵. A resposta inicial ao surto foi mesmo descrita pela organização Médicos Sem Fronteiras (MSF) como “lenta e irresponsável”. Mesmo a resposta internacional inicial foi descoordenada, fazendo do esforço internacional global “um consórcio de confusão” ³⁶. Naturalmente que com o avançar da epidemia e com a crescente percepção internacional do perigo a resposta internacional foi sendo mais organizada e também mais financiada, o que se demonstrou essencial para o controlo da epidemia. A atenção internacional intensificou-se ainda mais quando em setembro e em outubro de 2014 foram anunciados os primeiros casos importados da doença, para os EUA e para Espanha respetivamente. Em maio de 2015 foi confirmado outro caso importado, desta vez em Itália, numa enfermeira regressada da Serra Leoa.

Segundo os dados mais recentes a epidemia conta à data da redação do trabalho com um número total de vítimas mortais que ronda as 11000, de um total de quase 30000 casos registados em todo o mundo (**Figura 5**). A fase mais crítica da epidemia está porém ultrapassada, o que acontece, importa referir, sobretudo devido a medidas de saúde pública, e não à custa de fármacos ou de vacinas. Recentemente a Diretora Geral da OMS anunciou que se se mantiver a atual política de deteção precoce dos doentes e criterioso seguimento dos contactos o fim da epidemia poderá acontecer no final de 2015 ³⁷. De facto a epidemia está a abrandar no que respeita a novos casos reportados por semana, e a Serra Leoa, um dos principais países afetados, encontra-se perto de ser considerada livre de transmissão do vírus Ébola, o que acontece quando decorrem 42 dias (o dobro dos 21 dias de incubação da doença) desde que o último doente morre ou se torna laboratorialmente negativo para o vírus ³⁸. É no entanto necessária alguma cautela uma vez que o vírus está ainda em circulação, bastando um caso de atraso diagnóstico para que se possa gerar um novo ciclo de infeção. A Libéria, por exemplo, tinha sido já declarada livre de transmissão há poucos meses quando a 9 de junho se confirmou um novo caso no país.

Em Portugal até à data de redação deste trabalho foram investigados uma dezena de casos suspeitos, não tendo sido no entanto identificado nenhum caso de doença por vírus Ébola. O risco de importação de casos para Portugal é considerado baixo, assim como é baixo o hipotético risco de transmissão secundária no território nacional ³⁹.

De notar que durante o decorrer da atual epidemia ocorreu um pequeno surto provocado por outro vírus da espécie *Zaire Ebolavirus*, não relacionado com a epidemia atual, debelado em poucos meses ⁴⁰.

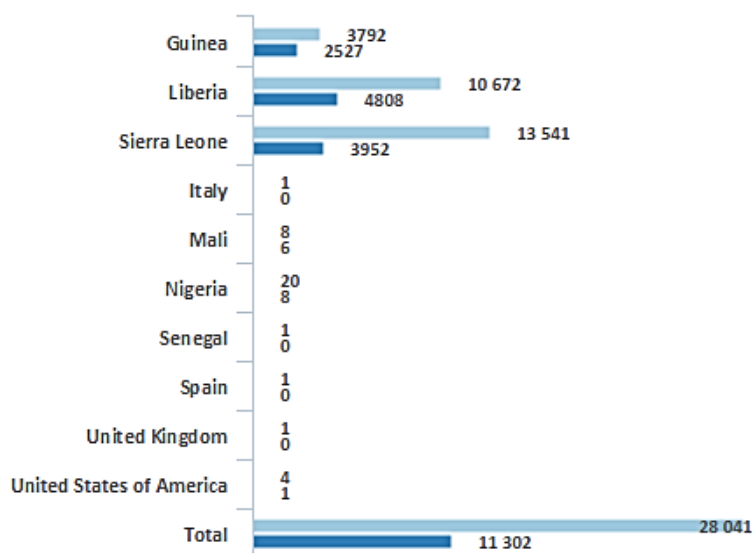


Figura 5 – Número de casos e de mortes atribuídos à atual epidemia em 23 de agosto de 2015. As barras a azul-claro representam o número de casos e a azul-escuro o número de mortes. Retirado de ⁴¹

3.1.2.2 Genética, análise filogenética e evolução do vírus

O vírus responsável por esta epidemia pertence à espécie *Zaire Ebolavirus*, mais concretamente uma nova variante, Makona, isolada na Guiné Conacri em 2014 ⁴⁰. Esta variante apresenta 97% de homologia com a variante de EBOV protótipo, EBOV-Mayinga, isolada em 1976 ³².

A comparação do genoma de EBOV-Makona com genomas de vírus responsáveis por surtos prévios sugere que a epidemia de 2014 teve origem num vírus que se foi disseminando no seu reservatório natural ao longo da última década a partir da África Central. Esta descoberta significa que desde cerca de 2004, ano em que se coloca o ancestral comum dos surtos mais recentes, existe em circulação na África Ocidental uma população geneticamente diversa de vírus que causa doença em humanos quando ocorrem eventos isolados de transmissão zoonótica⁴².

No início da atual epidemia, durante a disseminação do vírus na Serra Leoa, verificou-se que as taxas de substituição nucleotídica foram quase o dobro do expectável, com ocorrência frequente de mutações não sinónimas ⁴². Este facto levantou dúvidas e preocupações relativamente à taxa de evolução do vírus e em que medida isso se poderia relacionar com a sua virulência e capacidade adaptativa. Contudo um trabalho recente determinou a taxa de substituição dos nucleótidos durante a atual epidemia (9.6×10^{-4} substituições por local por ano), verificando que esta era consistente com as taxas de mutação observadas na África Central em surtos anteriores, o que sugere que o vírus não está a sofrer uma rápida evolução nos humanos ⁴³. As elevadas taxas de mutação registadas durante a disseminação inicial podem ter sido uma flutuação aleatória, como é sugerido pelos próprios autores, ou podem ser resultado da presença de mutações deletérias transitórias que têm ainda de ser removidas pela seleção natural ⁴⁴. Esta conclusão tranquilizadora não altera porém o facto de o vírus ser capaz de gerar e fixar variações nucleotídicas e mesmo na sequência de aminoácidos durante surtos individuais, particularmente se estes forem longos. Estas variações podem ser substanciais e levarem à existência de diferentes linhagens de vírus em co-circulação, incluindo linhagens específicas de país, que podem mesmo obrigar a diferentes abordagens terapêuticas e profiláticas ⁴⁵.

3.2 Transmissão

3.2.1 Infecção Animal-Humano

A doença causada pelo vírus Ébola é uma zoonose típica; no entanto, e apesar de numerosas tentativas para identificar o reservatório natural do vírus nos últimos 30 anos, só recentemente os morcegos foram definitivamente apontados como reservatórios dos vírus Ébola e Marburg. A primeira evidência concreta da ocorrência natural de Ébola nestes animais foi a detecção de material genético viral e de anticorpos em três espécies de morcegos: *Hypsignathus monstrosus*, *Epomops franqueti* e *Myonycteris torquata*^{46,47}. A transmissão do vírus aos humanos a partir dos morcegos está sobretudo relacionada com a caça e com o consumo da sua carne não cozinhada, via esta que, em primatas não humanos, se demonstrou estar associada a altas taxas de letalidade⁴⁸. A interação entre humanos e morcegos não se cinge, no entanto, ao consumo desses animais; mais de metade da população do Gana rural admite visitar regularmente cavernas com morcegos e mais de 40% afirma mesmo ter sido arranhado ou mordido⁴⁹. O *habitat* natural dos morcegos é bastante vasto, o que é compatível com as conclusões de um estudo recente que delimita o nicho de potencial transmissão zoonótica do Ébola a uma região que engloba mais de 22 países na África Central e Ocidental e que é habitada por 22 milhões de pessoas⁵⁰. Algumas espécies de morcegos foram também identificadas em ambientes que não os mais típicos, nomeadamente em parques de cidades ou em campos de cultivo, o que aumenta a probabilidade de interações com humanos.

Apesar de o contacto com morcegos ser uma via de transmissão importante, mais frequentemente a zoonose é transmitida aos humanos através do consumo de carne de outros animais infetados ou do contacto com as suas secreções. Uma grande variedade de animais selvagens pode ser infetada pelo vírus, provavelmente através da ingestão de fruta contaminada com saliva e fezes de morcego, ou pela ingestão de carne infetada. De entre os animais suscetíveis à infecção destacam-se os que representam fontes importantes de proteínas para

algumas populações, nomeadamente roedores, antílopes e pequenos primatas. Os primatas não humanos, em especial, têm sido frequentemente implicados na emergência de surtos em humanos. Lamentavelmente também algumas das suas populações têm perecido à custa de surtos de Ébola ⁵¹. Em algumas regiões Africanas a crescente extração de madeiras e consequente desflorestação conduziu ao aumento da caça de animais selvagens, aliás necessário para suportar a também crescente densidade populacional, aumentando a probabilidade de infeções zoonóticas. Ao contrário do que se poderia imaginar o mercado da caça não regulamentada não é apenas local, estimando-se que a cada semana cerca de 5 toneladas de caça seja importada ilegalmente para a Europa ⁵².

O vírus é suscetível a uma variedade de desinfetantes e é inativado pela cozedura (60° por 60 minutos) ou fervura durante 5 minutos, o que implica que o consumo de carne cozinhada, mesmo proveniente de animais portadores do vírus, não comporte risco de infeção. No entanto é importante sublinhar que os hábitos alimentares em certas regiões Africanas incluem o consumo de carne crua refrigerada a 4°C em que o vírus pode sobreviver por mais de 50 dias⁵³. Além disso todo o processo desde a caça até à confeção acarreta risco devido ao natural contacto com sangue e outros fluidos dos animais infetados.

Além da transmissão a partir dos animais já mencionados outras espécies animais, incluindo espécies domesticadas, têm vindo a ser equacionadas. Foi demonstrada seroprevalência IgG em cães de vilas Africanas em que houve casos de infeção humana. Não foi porém reportada doença nos animais e não se conseguiu isolar EBOV. Nesse estudo a validade da técnica foi questionada e consequentemente o significado da descoberta ⁵⁴. Mais recentemente foram isolados vírus em porcos domésticos nas Filipinas ⁸. Também o papel das aves na ecologia e evolução dos filovírus, em particular como possível fonte de infeção para os humanos, foi recentemente sugerido mas carece ainda de maior investigação ⁵⁵.

3.2.2 Infeção Humano-Humano

O principal modo de transmissão nas epidemias em humanos tem sido a transmissão pessoa-a-pessoa através de contacto direto com doentes ou cadáveres infetados. A transmissão do vírus requer contacto próximo com secreções ou fluidos corporais (sangue, saliva, urina, fezes, sémen, secreções genitais, vômito, leite ou suor) ou tecidos/órgãos de outras pessoas infetadas. É importante salientar que as secreções não têm de apresentar sangue visível para ocorrer transmissão ⁵⁶. As vias de transmissão são as membranas mucosas, a conjuntiva e pequenas soluções de continuidade da pele ⁵⁷. Uma das características mais marcantes da transmissão do Ébola, responsável em parte pelo receio e alarme associado a este vírus, é o facto de na pele de indivíduos doentes terem sido identificadas quantidades copiosas de vírus; daí o facto de tocar uma pessoa doente poder resultar em infeção, uma vez que a barreira cutânea do indivíduo saudável pode estar lesada mesmo que de forma impercetível para o próprio ⁵⁸.

A capacidade de transmissão do vírus varia de forma significativa relativamente ao estadio da doença. Durante a fase inicial, entre a infeção e os primeiros sintomas, o risco de transmissão é quase nulo, como foi comprovado durante a atual epidemia em que vários infetados nesse estadio estiveram em contato com milhares de pessoas sem quaisquer medidas preventivas e sem que tivesse ocorrido infeção. O risco de transmissão também parece ser muito baixo durante os primeiros dias de sintomatologia ⁵⁹. No entanto, à medida que doença progride, o risco de transmissão aumenta drasticamente, o que se deve ao aumento exponencial da carga viral e também ao facto de os sintomas se tornarem mais exuberantes, com vômitos e diarreias maciços. A carga viral nas fases terminais da doença pode atingir mil milhões de cópias por mililitro de sangue, ou seja, 2 a 4 ordens de grandeza mais elevadas do que os picos de carga viral nas infeções por Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) ou Hepatites B e C. A carga viral é ainda um preditor do prognóstico, sendo que os doentes que acabam por falecer têm habitualmente cargas virais mais elevadas ⁶⁰.

A transmissão através de aerossóis não foi documentada em ambiente natural, apesar de ter sido conseguida em laboratório na infeção de primatas não humanos ⁶¹. Mesmo na presença de doentes infetados em espaços confinados não se verificou transmissão por via aérea, o que provavelmente se deve à reduzida carga viral nos pulmões ⁵⁶. Ainda assim, devido à eventualidade desta via de transmissão, o Ébola é considerado na categoria A dos agentes de bioterrorismo.

A maior parte da transmissão ocorre entre os doentes e os seus familiares e cuidadores, já que nos países mais atingidos apenas uma pequena franja da população tem acesso à “Medicina Ocidental”. Mesmo nos locais onde essa possibilidade existe verifica-se desconfiança por parte da população em relação a estes serviços, impedindo os indivíduos doentes de procurar ajuda médica e levando a que se refugiem em casa ou recorram a curandeiros tradicionais. Em alguns locais está ainda enraizada a crença de que os profissionais de saúde atuam como reservatórios do vírus ⁶². É no entanto importante salientar que a infeção associada aos cuidados de saúde ditos Ocidentais desempenha de facto um papel muito importante na transmissão do vírus Ébola. Nos primeiros surtos registados no Sudão do Sul e no Zaire houve casos relatados de infeção devido a reutilização de agulhas ⁶³, uma via de infeção que se associa a taxas de letalidade particularmente elevadas. Apesar de mais recentemente este tipo de má prática não ter sido reportado, os hospitais ou clínicas continuam a ser um foco de transmissão e os profissionais de saúde estão especialmente vulneráveis, com um de risco de infeção 32 vezes superior ao da população em geral. De janeiro de 2014 a o arço de 2015, e apenas na Guiné Conacri, Serra Leoa e Libéria, foram contabilizados 815 casos de doença nestes profissionais, o que corresponde a 3,9% do total de casos registados. As condições precisas em que a infeção ocorre são difíceis de determinar mas é provável que a maioria aconteça durante a triagem, quando o doente não está ainda diagnosticado. Também a utilização inadequada de

equipamento de proteção e as más condições de trabalho são decisivas para a sucessão de infecções nos espaços de saúde ⁶⁴.

Além dos doentes os cadáveres representam uma das principais fontes de infecção, o que se deve ao facto de as práticas de rituais fúnebres nos países atingidos envolverem frequentemente a manipulação do cadáver. Durante o surto em Kikwit em 1995, por exemplo, o corpo de um indivíduo falecido com doença por vírus Ébola foi levado para a sua residência à revelia da Cruz Vermelha com vista a serem realizados os rituais fúnebres tradicionalmente exigidos, o que deu origem a um novo surto nessa localidade ⁶⁵.

A transmissão através de objetos recentemente contaminados com fluidos é também possível, tendo sido demonstrado que os filovírus podem sobreviver em superfícies sólidas e em líquidos durante várias semanas. A transmissão através de fómites não parece no entanto ter um papel relevante na disseminação da infecção. Não há evidência de transmissão através da picada de mosquito ou de outros insetos ⁶⁶.

O contacto íntimo com doentes em convalescença é também uma forma de transmissão, apesar de pouco comum e apenas comprovada recentemente. Foi detetado material genético viral em secreções vaginais, rectais e conjuntivais até 1 mês após o início da doença. No sémen esse período pode mesmo prolongar-se até 3 meses ⁶⁷. A transmissão através da amamentação mesmo após a recuperação clínica da mãe nunca foi documentada mas também não pode ser excluída ⁵⁶. O papel dos portadores assintomáticos nos surtos não está completamente esclarecido, mas admite-se um papel reduzido na propagação da doença ⁶⁸.

3.3 Patogénese

O efeito patogénico da infeção pelo vírus Ébola deve-se não só ao efeito citopatogénico direto que causa destruição das células infetadas mas sobretudo a efeitos indiretos, como a desregulação do sistema imunitário e do endotélio.

Após a entrada do vírus no organismo as primeiras células infetadas são os monócitos, os macrófagos e as células dendríticas. A infeção precoce destas células tem um papel fulcral na rápida disseminação do vírus pelo organismo ⁶⁹. Além disso, ao infetar estas células o vírus consegue corromper as funções celulares e o papel central destas células na imunidade, provocando uma profunda supressão imunitária que permite ao vírus a sua replicação descontrolada e disseminação. A modelação das respostas imunológicas inata e adaptativa é um tema muito complexo, representado de forma simples na recente revisão de Falasca e colaboradores (**Figura 6**). Os mecanismos através dos quais o vírus manipula a resposta imunitária são igualmente complexos e não cabem no âmbito desta revisão.

Os filovírus são capazes de infetar e de se replicar numa grande variedade de tipos celulares. À medida que a infeção progride o vírus infeta hepatócitos, células corticais da supra-renal, fibroblastos e células endoteliais. Esta progressão relaciona-se intrinsecamente com as apresentações clínicas, muitas vezes através de fenómenos convergentes. A título de exemplo veja-se a coagulopatia, uma característica comum e importante na patogenia do vírus Ébola cuja patofisiologia engloba a ativação do sistema fagocítico mononuclear, a agregação e consumo plaquetar, a ativação da cascata da coagulação, a deficiência de fatores de coagulação por atingimento hepático e ainda a lesão endotelial.

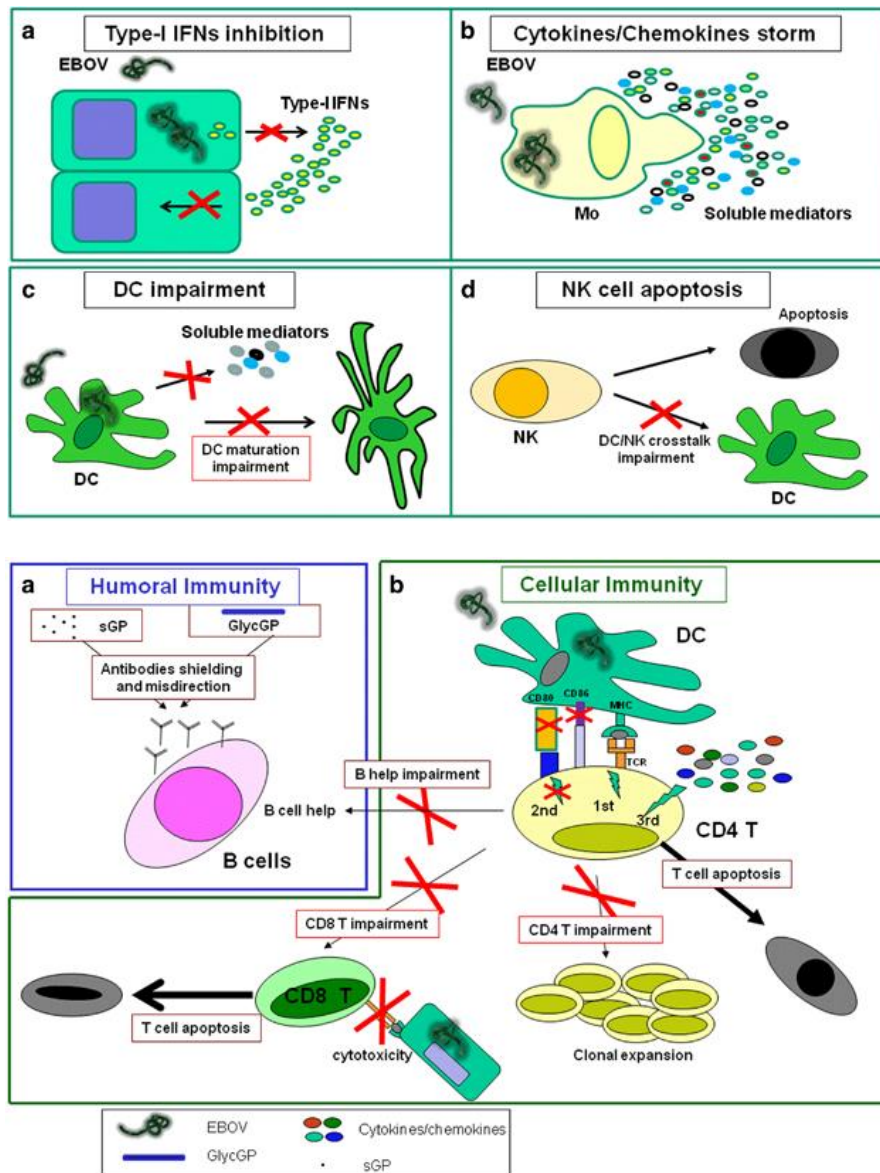


Figura 6 – Disfunção da imunidade provocada por infecção pelo vírus Ébola.

6 Cima' Disfunção da imunidade inata provocada pela infecção por vírus Ébola. A infecção por Ébola (a) bloqueia a produção de interferão (IFN) tipo 1 e bloqueia a resposta ao INF pelas células não infetadas (b) induz a produção de grandes quantidades de citocinas pelos monócitos/macrófagos (c) impede a maturação das células dendríticas (CDs) e desregula a produção de citocinas e (d) induz a apoptose maciça de células *Natural Killer* (NK) impedindo as suas funções.

6 Baixo' Disfunção da imunidade adaptativa provocada pela infecção por vírus Ébola. (a) As glicoproteínas servem como “escudo” aos anticorpos. (b) A infecção nas CDs leva à desregulação da sinapse entre as CDs e as células T através da diminuição das moléculas estimuladoras acessórias num microambiente altamente inflamatório. Isto leva a apoptose das células T e à inexistência de expansão clonal de células T CD4. De notar que os linfócitos não são infetados pelo vírus mas sofrem apoptose e são removidos pelas células que os rodeiam. Retirada de ⁷⁰

3.4 Clínica

3.4.1 Dados Epidemiológicos

A apresentação clínica da doença por Ébola é frequentemente descrita como muito aparatosa, o que acontece de facto em muitos casos como veremos de seguida. No entanto é também verdade que muitas das infeções são assintomáticas, o que é comprovado pela discrepância entre seropositividade e doença clínica ⁶⁸. O número de infeções silenciosas pode mesmo ser bastante elevado, como prova o estudo de Heffernan e colaboradores que mostrou que em localidades Africanas repetidamente afetadas por Ébola mais de 70% dos habitantes nunca tinha apresentado qualquer sintoma ⁷¹. Uma vez que a carga viral se associa diretamente com a clínica os indivíduos assintomáticos apresentam provavelmente baixas cargas virais durante a infeção, que é rapidamente debelada por uma resposta inflamatória precoce ⁷². Devido a essas reduzidas cargas virais estas infeções assintomáticas não são à partida passíveis de transmissão.

No que respeita aos indivíduos sintomáticos verifica-se que na atual epidemia a incidência é ligeiramente superior no sexo feminino com 50,8% da incidência total (calculada em janeiro de 2015). Apesar de reduzida esta diferença é facilmente explicável dado serem as mulheres que mais vezes prestam assistência aos doentes, estando por isso expostas a maior risco de infeção ⁷³. Tanto na atual epidemia como em surtos prévios a incidência de doença parece ser menor nas crianças, o que tem sido atribuído ao facto de estas serem menos expostas a potenciais fontes de contágio tais como doentes e cadáveres. No entanto na epidemia de Kikwit em 1995 verificou-se que mesmo em iguais condições de exposição a incidência nas crianças se mantinha inferior. Os fenómenos subjacentes a esta aparente tolerância permanecem desconhecidos ⁷⁴. Relativamente aos adultos foi recentemente reportada uma maior incidência da doença em indivíduos com idade superior a 45 anos ⁷⁵. No entanto outro trabalho contraria essa afirmação sugerindo que a incidência atinge um pico na faixa etária entre os 35 e os 44 anos, diminuindo de seguida ⁷⁶. Torna-se difícil determinar se diferentes incidências

correspondem a diferentes graus de exposição ao vírus ou se de facto a idade do hospedeiro tem influência na infeção.

3.4.2 Manifestações Clínicas Precoces

O curso clínico da infeção difere de acordo com a espécie de vírus em causa. Regra geral a doença manifesta-se após um período de incubação que pode variar dos 3 aos 21 dias (4 a 10 em média) ⁷⁷. O início é súbito e o período sintomático dura entre 5 a 15 dias ⁷⁸. Numa fase inicial os doentes apresentam-se com um quadro pouco específico de febre, arrepios, mal-estar geral, dores musculares, faringite com disfagia e artralgias focalizada às grandes articulações. Fortes cefaleias frontais com irradiação para a região occipital são também comuns ²⁹. Compreensivelmente este quadro clínico é facilmente confundido com um vulgar quadro gripal. A febre excedendo os 39°C está quase sempre presente e tem geralmente início abrupto, mas pode também ser precedida de temperaturas subfebris. Na atual epidemia, contudo, quase 20% dos casos confirmados não apresentavam febre à data do diagnóstico ⁷⁹. Temperaturas médias diárias mais elevadas são indicadores de mau prognóstico, associando-se a maior mortalidade⁸⁰. Ao exame objetivo o doente encontra-se geralmente muito fragilizado, letárgico. É frequente encontrar-se uma dissociação pulso-temperatura, ou seja, ao aumento de temperatura não corresponde o habitual aumento de frequência cardíaca. Este fenómeno, cujo mecanismo permanece inexplicado, é comum a outras doenças como a febre tifóide, febre-amarela, dengue, malária e leptospirose ⁸¹. É também comum, na fase inicial da doença, existir taquipneia ligeira. Um trabalho realizado na Serra Leoa no decorrer da atual epidemia determinou a média da saturação de oxigénio nos 96% ⁸⁰. A tensão arterial é geralmente normal, desde que a volémia se encontre mantida.

Em cerca de 50% dos casos surge entre os dias 5 e 7 de doença um eritema maculopapular não pruriginoso com início no tronco e que se pode estender por todo o corpo, poupando no entanto

a face, e que evolui para descamação nos sobreviventes ⁸². Este sinal é muito útil para o diagnóstico diferencial mas pode ser de difícil identificação em doentes de pele escura. Na atual epidemia este sinal não tem sido uma característica proeminente ⁸³.

Após estas manifestações iniciais ocorre um de dois cenários: recuperação para a cura ou aparecimento de sintomas tardios, mais severos (descritos na secção seguinte), e que culminam na maioria das vezes com a morte dos doentes. Nos casos não-fatais a melhoria clínica ocorre geralmente entre o 6º e o 11º dia de doença, em simultâneo com o início da produção de anticorpos. Nestes doentes a produção de IgM e IgG específicos parece associar-se a uma resposta inflamatória precoce e intensa. É por isso comum afirmar-se que se um doente sobreviver 10 dias após o início da doença o prognóstico se torna mais favorável. A recuperação é lenta, demorando semanas a meses em que se mantém a incapacidade, a fraqueza, a diminuição da libido e as cefaleias.

3.4.3 Manifestações Clínicas Tardias

Nos casos graves em que não há melhoria clínica surgem, no final da primeira semana de doença, novos e graves sintomas que denunciam o seu envolvimento multissistémico. A sintomatologia é múltipla e variada, podendo haver atingimento gastrointestinal (anorexia, náusea, vómitos e diarreia severos, dor abdominal), respiratório (dor torácica, dispneia, tosse, rinorreia), vascular (hipotensão), neurológico (cefaleia, confusão, coma) e cardiovascular (choque e/ou edema).

Apesar de o conjunto clássico de sintomas de apresentação descrito em surtos prévios ser a febre, a anorexia, a astenia e o eritema maculopapular ⁸⁴, na atual epidemia os sintomas gastrointestinais são descritos como proeminentes, motivo habitual de procura de cuidados assistenciais. Observações clínicas de uma instituição de saúde na Libéria durante 2014 demonstraram que os vómitos, a diarreia e a dor abdominal intensas têm início entre o 3º e o 5º

dia de doença, e que os doentes habitualmente chegam aos cuidados de saúde 2 ou 3 dias depois⁸⁵. De entre estes sintomas merece destaque a diarreia, aquosa e profusa, com perdas que podem atingir os 8000 ml/dia⁸⁶. A perda de volume através da diarreia, náuseas, vômitos e eventuais hemorragias pode conduzir a choque hipovolémico de que resulta hipoperfusão e acidose com níveis elevados de lactato sérico⁸⁷. A hipoperfusão pode também resultar em lesão renal aguda. A hipovolémia é exacerbada quando há atingimento das supra-renais, com consequente perda da regulação fisiológica da tensão arterial, o que conduz a hipotensão refratária⁸⁸.

As manifestações hemorrágicas, associadas entre outros fatores a fenómenos de Coagulação Intravascular Disseminada (CID) e à trombocitopenia surgem geralmente no pico da fase sintomática. Incluem petéquias, equimoses, sangramento dos locais de punção, hemorragias das mucosas e hemorragias internas com efusões hemorrágicas⁸⁹. Clinicamente as manifestações mais comuns são hematemeses ou melenas, seguidas das hemorragias na pele e mucosas; epistáxis e hematúria são manifestações mais raras⁸². Nos surtos prévios as manifestações hemorrágicas eram patentes em 30 a 80% dos doentes; durante a epidemia em Kikwit em 1995, por exemplo, a infeção foi inicialmente interpretada como disenteria bacilar devido às proeminentes hemorragias gastrointestinais⁹⁰. Na epidemia em curso, porém, há registo de hemorragias inexplicadas em menos de 20% dos doentes. Por essa razão a expressão “febre hemorrágica por Ébola” tem sido abandonada em favor de “doença provocada pelo vírus Ébola”, traduzindo a menor frequência das complicações hemorrágicas.

Na fase avançada da doença é frequente existir taquipneia severa como resposta à acidose metabólica. Singultos (os vulgares “soluços”) são também frequentes nesta fase, talvez por irritação diafragmática ou do nervo frénico devido a neurite frénica, pericardite, irritação do esófago ou alterações metabólicas⁸². Pode ainda ocorrer psicose, comportamento agressivo,

confusão e ansiedade, secundárias a meningoencefalite viral, já demonstrada em primatas não humanos ⁹¹.

Anúria resultante de insuficiência renal, falência orgânica múltipla, choque e alterações metabólicas não corrigíveis são eventos terminais de muito mau prognóstico e que geralmente precedem a morte do doente. Nos casos com pior desfecho a morte ocorre entre o 6º e 16º dias após o início dos sintomas, na maioria devido a choque ou falência multiorgânica. Muitas vezes nestes casos a produção de anticorpos é nula ⁹².

Nas crianças os sintomas respiratórios (tosse e dispneia), a febre e os sintomas gastrointestinais foram descritos como os mais comuns. Apenas 16% das crianças e adolescentes apresentou hemorragias, e os sintomas do Sistema Nervoso Central foram raros ⁹³. A infecção em mulheres grávidas pode ter uma apresentação clínica atípica, resultado talvez da imunotolerância induzida pela gravidez, acarretando risco aumentado de complicações na gravidez e de morte fetal⁹⁴.

3.4.4 Análises Laboratoriais

Os doentes com doença por Ébola apresentam-se tipicamente leucopênicos à data do diagnóstico, com um número reduzido de linfócitos e uma percentagem elevada de granulócitos neutrófilos. À medida que a doença progride o número total de leucócitos aumenta, excedendo os valores normais, com um aumento do número de granulócitos imaturos e com o aparecimento de numerosos linfócitos atípicos. Nos casos fatais a leucocitose persiste até ao final ⁵⁷.

A trombocitopenia é comum, podendo estar presente na apresentação ou desenvolvendo-se precocemente. Habitualmente é moderada 50000 – 100000 células/ μ l, mas nos casos mais graves a contagem de plaquetas continua a decrescer até à morte do doente ⁵⁷. Verifica-se geralmente o aumento do tempo de protrombina (TP) e do tempo tromboplastina parcial ativado

(TTPa)⁹⁵. Estes achados, em conjunto com o aumento dos produtos de degradação da fibrina, sugerem uma coagulopatia de consumo devida à CID, o que contribui para a falência multiorgânica. A hipoalbuménia, também descrita, pode exacerbar as perdas vasculares⁸².

É comum existirem níveis elevados de alanina transaminase (ALT) e de aspartato transaminase (AST), mas as concentrações séricas destas enzimas são habitualmente muito menos elevadas do que as registadas nas infeções pelos vírus da Hepatite A, B ou da febre-amarela. Tanto em surtos prévios como na presente epidemia a AST surge habitualmente mais elevada do que a ALT⁸⁰. Um estudo relativo ao surto de Ébola no Uganda no ano 2000 pelo vírus *Sudan Ebolavirus* mostrou que os valores de AST eram significativamente mais elevados nos casos com desfecho fatal. A bilirrubina pode estar normal ou elevada, não sendo a icterícia uma característica proeminente na infeção por filovírus⁹⁶.

A diarreia profusa pode causar anomalias eletrolíticas graves, incluindo hipocaliémia e hipocalcémia. Um decréscimo a nível do cálcio sérico para níveis inferiores a 6 mg/dL associa-se a maior letalidade. Níveis de glicose mais baixos são expectáveis, mas não existe à data nenhuma associação entre glicémia e prognóstico⁹⁷.

A função renal apresenta-se geralmente conservada nas fases iniciais da doença, mas pelo final da primeira semana pode dar-se um declínio da diurese com a subida do azoto ureico e da creatinina. A falência da função renal é mais comum nos casos com desfecho fatal. Hematúria e proteínuria foram também características descritas em alguns doentes⁹⁶.

Há registo de casos de pancreatite e de hiperamilasémia, que podem ser a causa de dor abdominal nos doentes com doença por vírus Ébola⁹⁸.

3.4.5 Complicações e Sequelas

As complicações a longo prazo da doença pelo vírus Ébola não foram ainda amplamente estudadas, mas há evidência que sugere que os sobreviventes possam desenvolver Hepatite

recorrente, mielite, perda de cabelo e uveíte⁵⁷. Além destas sequelas um estudo recente com os sobreviventes do surto de 2007 pelo vírus BDBV evidenciou um risco significativamente aumentado de vários outros problemas tais como sintomas oculares (dor retro-orbital e visão turva), perda auditiva, dificuldade na deglutição, alterações do sono, artralgias e limitações na memória, além de alterações específicas para cada grupo etário⁹⁹. A frequência elevada deste tipo de sintomas levou já à abertura de clínicas especializadas no tratamento dos sintomas pós Ébola na Libéria, um país muito afetado pela doença que contabiliza mais de 5000 sobreviventes (4 clínicas a 15 de agosto de 2015, com perspectiva de novas unidades para breve).

3.5 Diagnóstico

Os doentes com contexto clínico sugestivo de infeção, nomeadamente história de exposição, sinais, sintomas e achados laboratoriais compatíveis devem sempre fazer suspeitar da doença. Contudo o diagnóstico pode ser difícil devido à inespecificidade dos sintomas iniciais e ao facto de os diagnósticos diferenciais incluírem doenças como a malária, o dengue, a febre de Lassa, a febre tifóide e a meningite meningocócica além de outras febres hemorrágicas, todas doenças que ocorrem nas mesmas áreas geográficas do que a doença por vírus Ébola. Qualquer diagnóstico presuntivo deve por isso ser confirmado, não só para proporcionar os melhores cuidados ao doente mas sobretudo para tomar as medidas epidemiológicas necessárias à contenção da infeção. De acordo com as Orientações da Direção Geral de saúde (DGS) o médico deve considerar um *caso suspeito* de doença por vírus Ébola uma pessoa que apresente os critérios clínicos e epidemiológicos presentes na **Tabela 3**. Pode falar-se de *caso provável* se o caso suspeito for validado pela DGS, enquanto o *caso confirmado* acontece após confirmação laboratorial da doença ¹⁰⁰. O diagnóstico laboratorial específico consiste na deteção do material genético do vírus, dos seus antígenos ou na determinação da resposta imunológica específica.

Tabela 3 – Definição de Caso suspeito de doença por vírus Ébola segundo a DGS. Adaptado de ¹⁰⁰

Critérios Clínicos		Critérios Epidemiológicos
<p style="text-align: center;">Febre +</p> <p>pelo menos mais um dos seguintes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Náuseas, vômitos, diarreia, anorexia, dor abdominal; • Mialgias, astenia, câibras, odinofagia; • Cefaleia, confusão, prostração; • Conjuntivite, faringe hiperemiada; • Exantema maculopapular, predominante no tronco; • Tosse, dor torácica, dificuldade respiratória e ou dispneia; • Hemorragias. Em estádios mais avançados da doença pode ocorrer insuficiência renal e hepática, distúrbios da coagulação, entre os quais coagulação intravascular disseminada e evolução para falência multiorgânica. 	+	<p style="text-align: center;">Estadia (viagem ou residência) em área afetada (Guiné-Conacri, Libéria e Serra Leoa) num período de 21 dias antes do início dos sintomas.</p> <p style="text-align: center;">OU</p> <p style="text-align: center;">Contacto próximo, nos últimos 21 dias com doente infetado por vírus Ébola, com superfícies ou objetos contaminados</p>

3.5.1 Métodos de Diagnóstico

3.5.1.1 Detecção de Ácidos Nucleicos Virais

Os testes de deteção de ácidos nucleicos do vírus Ébola, ou métodos moleculares, baseiam-se na técnica de amplificação Polymerase Chain Reaction (PCR), em particular na Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT - PCR). Estes testes são os mais sensíveis, sendo atualmente considerados o padrão de ouro para o diagnóstico da doença. Apesar de a sensibilidade desta metodologia ser excelente na fase aguda (quase 100%), o vírus não é detetável durante o período de incubação, e mesmo após o início dos sintomas pode permanecer indetetável por um período de 72 h ⁸⁵. Este conceito é especialmente importante na interpretação de resultados uma vez que um resultado negativo neste período não exclui a infeção.

Os vírus podem ser detetados em vários fluidos corporais como a saliva, suor ou sémen, mas com menor sensibilidade do que no sangue venoso, razão pela qual é este o substrato preferencialmente utilizado. Um trabalho recente estuda a possibilidade de realizar RT-PCR em sangue capilar como alternativa às punções venosas, o que tornaria a recolha menos agressiva e com menor risco de contaminação para o profissional de saúde ¹⁰¹.

A deteção de ARN viral tem a desvantagem de não fornecer resultados imediatos, além de que a metodologia é complexa de executar, havendo necessidade de laboratórios bem equipados e pessoal altamente qualificado. O diagnóstico baseado na PCR está por isso confinado a laboratórios de nível de segurança 3 (BSL-3), com reforço das condições de segurança individuais para minimizar o risco de transmissão da infeção por via percutânea, através de mucosas e de procedimentos geradores de aerossóis, usando equipamento de proteção individual (EPI) adequado. Em Portugal, e de acordo com orientações da DGS os procedimentos laboratoriais para diagnóstico de doença por vírus Ébola só podem ser realizados no Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSA). Nos países Africanos afetados grande parte dos diagnósticos é realizado numa rede de sofisticados laboratórios móveis da

responsabilidade de múltiplas organizações internacionais instalados perto de centros de tratamento da doença por vírus Ébola, coordenada pela OMS. É recomendado que os testes realizados fora de um laboratório de referência sejam enviados a um centro de colaboração com a OMS para confirmação secundária. Na **Figura 7** encontram-se representados de forma esquemática os diferentes testes de diagnóstico e os seus locais de aplicação. O facto de a doença estar disseminada e de o diagnóstico estar centralizado levou a que alguns doentes fossem obrigados a deslocar-se longos períodos até esses centros de referência, o que protela o diagnóstico e consequentemente aumenta a possibilidade de novas infeções. Em parte devido a estes atrasos à data do diagnóstico a maioria dos doentes com doença confirmada estava já sintomática (e infecciosa) há 5 ou 6 dias ⁴².

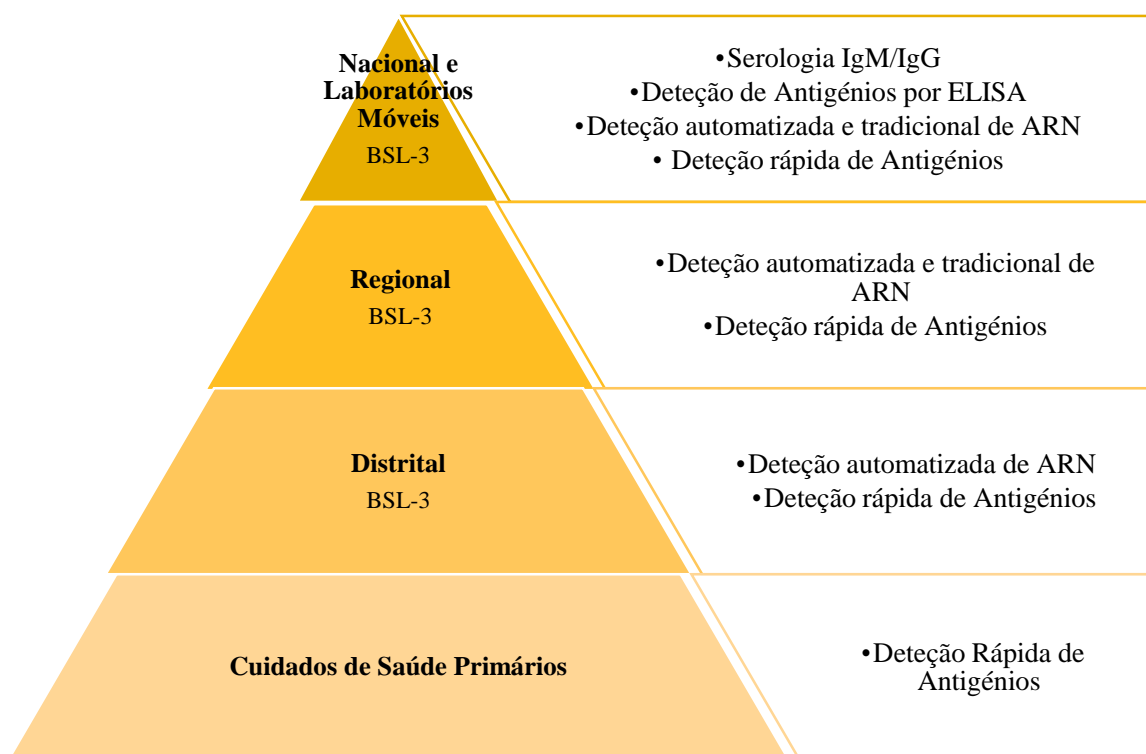


Figura 7 – Testes de diagnóstico escalonados por níveis de cuidados de saúde. Adaptada de ¹⁰²

Com vista a promover técnicas mais simples capazes de serem aplicadas à cabeceira do doente a OMS iniciou em outubro de 2014 um programa de promoção de desenvolvimento de testes diagnóstico rápidos, seguros e economicamente viáveis ¹⁰³. Desde então um número considerável de testes foi desenvolvido, incluindo testes moleculares que utilizam matrizes que contêm já os reagentes necessários, de mais simples aplicação e sem necessidade de equipamento específico ou maestria técnica. Estes novos métodos proporcionam a oportunidade de os testes de biologia molecular saírem dos laboratórios de referência para serem aplicados diretamente em serviços de saúde. Em 2014 e 2015 vários destes dispositivos comerciais dirigidos a diferentes alvos genéticos foram aprovados para utilização de emergência pela Food and Drug Administrations (FDA). Com o decréscimo da epidemia, contudo, não tem havido grande capacidade de implementação e consequente validação destas metodologias.

A metodologia RT-PCR com quantificação pode também ser utilizada como prognóstico uma vez que altas cargas virais se associam a pior prognóstico. Nos sobreviventes a virémia desaparece pelo final da segunda semana de doença.

3.5.1.2 Detecção de Antígenos Virais

A deteção de antígenos do vírus por Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) foi o método de eleição para diagnóstico da doença por Ébola antes do ano 2000 ¹⁰⁴, sendo desde então substituído pelo RT-PCR. A deteção de antígenos é muito sensível na fase aguda (cerca de 93%), mas torna-se menos sensível à medida que o antígeno vai desaparecendo entre os dias 7 e 16 ¹⁰⁵.

Recentemente a investigação tem sido no sentido de desenvolver testes rápidos de deteção de antígenos num formato semelhante ao “teste de gravidez”, com a enorme vantagem de poderem ser realizados em qualquer local e sem necessidade de equipamento auxiliar. O ReEBOV Antigen Rapid Test Kit, muito recentemente listado pela OMS, é um exemplo desta tecnologia

capaz de detetar o antígeno VP40. Apresenta boa sensibilidade e especificidade e fornece resultados em 15 minutos. Destina-se a testar indivíduos sintomáticos, particularmente em surtos em locais com poucos recursos sem acesso imediato à PCR. Estes testes não dispensam contudo confirmação subsequente com técnicas moleculares ¹⁰⁶.

3.5.1.3 Detecção de Anticorpos

Anticorpos específicos IgM podem ser detetados por ELISA na primeira semana após o início dos sintomas, sendo o pico atingido durante a segunda semana de doença. A IgM desaparece entre os dias 30 e 168 após o início do quadro clínico. O anticorpo IgG surge logo após a IgM, 6 a 18 dias após a sintomatologia, e persiste por vários anos (**Figura 8**). A maioria dos doentes infetados fatalmente não desenvolve resposta IgG, logo a presença deste anticorpo pode ser associada a um prognóstico mais favorável. A maioria das publicações sobre a serologia do Ébola demonstram não existir reatividade cruzada com outros vírus associados a febres hemorrágicas ⁸⁵.

Dada a sensibilidade limitada e o tempo necessário para positivar, os testes serológicos têm uma aplicabilidade limitada na prática clínica. São todavia importantes no estudo epidemiológico da doença e na investigação de novos métodos terapêuticos e de vacinas.

3.5.1.4 Cultura

A cultura dos vírus é uma técnica limitada pela necessidade de tecidos capazes de sustentar a replicação viral num laboratório de nível 4. Além disso, uma vez que para o crescimento do vírus são necessários cerca de 14 dias, esta técnica não é útil na prática clínica, estando quase exclusivamente reservada para a investigação clínica e epidemiológica.

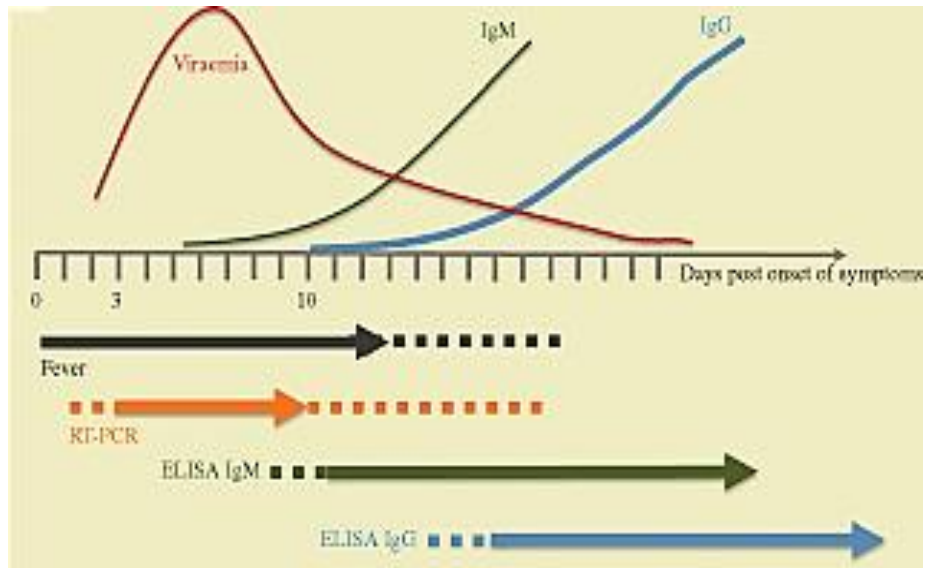


Figura 8 – Diagnóstico laboratorial da doença por Ébola ao longo do seu curso clínico. Retirada de ¹⁰⁷

3.6 Tratamento

3.6.1 Terapêutica de Suporte

Apesar de alguns fármacos estarem atualmente em experimentação não existe à data da redação deste trabalho nenhum agente terapêutico para prevenir ou tratar especificamente a doença causada pelo vírus Ébola. O tratamento atual baseia-se por isso em terapias de suporte, por vezes complementadas pela administração de fármacos experimentais.

Na terapêutica de suporte é fundamental garantir o balanço de fluidos e de eletrólitos para contrariar a desidratação provocada pela doença. A maioria dos doentes recebe reposição eletrolítica e hidratação oral; a utilização de fluidos intravenosos depende sobretudo das práticas do centro de tratamento em questão. Interessa também manter um estado de nutrição adequado e a normal hemóstase, além de controlar a náusea, a febre e a dor. As infeções secundárias bacterianas ou fúngicas são em alguns casos prevenidas com tratamento profilático e devem ser sempre tratadas. A instituição precoce deste tipo de medidas de suporte aumenta as hipóteses de sobrevivência. Encontra-se em experimentação a administração de proteína C para o tratamento da coagulopatia assim como várias estratégias para modular a resposta inflamatória¹⁰⁸.

3.6.2 Terapêutica Dirigida

3.6.2.1 Imunização passiva por transfusão

A transfusão de sangue de sobreviventes da doença por Ébola permite que o doente adquira rapidamente imunoglobulinas específicas contra o vírus, aumentando a probabilidade de sobrevivência. Este método foi já aplicado em surtos prévios, como o do KiKwit em 1995 em que 8 doentes receberam transfusões, tendo 7 sobrevivido¹⁰⁹. Também na epidemia em curso a transfusão de sangue total foi já utilizada.

Recentemente pondera-se a utilização de plasma de doadores convalescentes, em vez de sangue total, como veículo dos anticorpos, sendo este produto designado na literatura anglo-saxónica por *convalescent plasma* ou *convalescente serum*¹. O plasma foi utilizado com sucesso no tratamento de 5 profissionais de saúde após aprovação pelo painel de peritos da OMS ¹¹⁰. Prosseguem agora ensaios na Libéria, Guiné Conari e Serra Leoa com bons resultados até à data. Simultaneamente decorrem avaliações para determinar a segurança dos derivados de sangue fora do âmbito dos ensaios clínicos e a capacidade de colheita dos serviços de transfusão nos países afetados, fatores essenciais à aplicabilidade desta terapêutica. A técnica exige a compatibilidade entre o sangue do dador e do recetor para evitar reações de aglutinação. De notar que o plasma não é um fármaco manufacturado, pelo que a eficácia pode variar de sobrevivente para sobrevivente, levando a diferenças consideráveis entre tratamentos.

3.6.2.2 Fármacos Experimentais

Devido à necessidade urgente de terapêuticas para a doença por vírus Ébola a FDA tem trabalhado em parceria com a OMS no sentido de agilizar o desenvolvimento e a disponibilidade de fármacos seguros e eficazes. De momento encontram-se a decorrer 4 ensaios clínicos formais na África Ocidental para os fármacos Favipiravir, ZMapp, interferões e TKM-100802, este último suspenso. Decorreu também um ensaio para o fármaco Brincidofovir, entretanto cancelado (**Tabela 4**). O Favipiravir foi inicialmente descrito como um inibidor seletivo da replicação do vírus influenza com toxicidade mínima. Foi depois descoberto que inibe a polimerase de ARN dependente de ARN via um metabolito ativo ¹¹¹. A grande vantagem deste fármaco é o facto de ter já sido testado extensivamente em humanos e poder ser usado por via oral, estando disponível imediatamente.

¹ Na colheita de sangue é usado anticoagulante, por isso a expressão *convalescente serum* traz alguma confusão uma vez que se trata efetivamente de plasma e não de soro.

Tabela 4 – Fármacos participantes em ensaios clínicos formais na África Ocidental. Adaptada de ¹¹²

Produto/ Empresa	Descrição
Favipiravir Fujifilm/Toyama, Japão	Ensaio em fase II Usado tradicionalmente para tratamento de influenza. Utilizado em cerca de 200 doentes por vírus Ébola em estádios iniciais da doença. Dados preliminares não permitem tirar ilações relativas à eficácia.
TKM-100802 (siARN) Tekmira, Canadá	Ensaio em fase II Pequena sequência de ARN que interrompe o genoma do vírus bloqueando a expressão da polimerase. Trata 100% de macacos infetados. O ensaio encontra-se suspenso desde junho de 2015, sem ter demonstrado benefício terapêutico.
ZMapp MappBio, EUA	Ensaio em fase II <i>Cocktail</i> de 3 anticorpos monoclonais produzidos na planta do tabaco com atividade neutralizante em modelos animais. Trata 100% de primatas não humanos. O ensaio conta com a participação de 35 doentes e prossegue. Não existem ainda dados relativos à eficácia.
Interferões	Ensaio em fase II Aprovado para tratamento de Hepatite B e C e esclerose múltipla. O ensaio clínico conta apenas com 9 doentes até à data.
Brincidofovir Chimerix, EUA	Um antivírus utilizado para tratar Citomegalovírus (CMV). O funcionamento no Ébola é desconhecido. O ensaio foi abandonado em janeiro de 2015 porque o fármaco não foi fornecido pela empresa para a continuação do estudo, alegadamente por falta de participantes.

O ZMapp é uma combinação de 3 anticorpos monoclonais que reconhecem epitopos localizados na GP. Estudos em primatas não humanos foram bem-sucedidos o que levou a que fosse utilizado em trabalhadores da saúde durante a atual epidemia, tendo os doentes sobrevivido. No entanto a administração não foi efetuada no contexto de ensaio clínico formal pelo que o benefício não ficou comprovado. Atualmente os anticorpos são produzidos na planta do tabaco *Nicotiana benthamiana*, tecnologia esta que se pode mostrar insuficiente para produção em larga escala.

TKM-100802 é o nome dado a uma pequena sequência de ARN designada siARN (do inglês *small interfering RNA*) capaz de degradar o gene *L* da estirpe Makona que circula atualmente. O ensaio clínico teve início no princípio de 2015 e está atualmente suspenso uma vez que atingiu um *endpoint* determinado. O resultado indica que não há vantagem clínica na sua utilização.

Os interferões foram já utilizados no passado, com eficácia desconhecida. Este imunomodulador tem atividade antiviral comprovada estando aprovado para utilização na Hepatite B e C. Na sua aplicação torna-se problemática a necessidade de despistar previamente doenças concomitantes como a malária com vista a minimizar o risco da sua utilização.

Além destes existem outros fármacos com potencial terapêutico na doença por Ébola que não estão ainda em fase de ensaio clínico mas cujo início é considerado prioritário pela OMS (**Tabela 5**); outros fármacos não têm por agora estudos pré-clínicos suficientemente robustos para avançarem para a fase clínica mas podem ser considerados na terapêutica da doença por Ébola na ausência de outras terapêuticas disponíveis. De notar que alguns destes foram já administrados a doentes de forma compassiva ou em casos *ad hoc* (**Tabela 6**).

Tabela 5 – Fármacos cuja realização de ensaios clínicos é considerada prioritária. Adaptada de ¹¹²

Produto/ Empresa	Descrição
AVI-7537 Sarepta, EUA	Oligonucleótido <i>antisense</i> que inibe a replicação do vírus pela ligação ao gene VP24. Específico para a variante de vírus atual.
rNAPc2 Arca Biopharma, EUA	Inibidor do fator tecidual. Aumenta os tempos de sobrevivência em animais.
MIL-77 MabWorks, China	<i>Cocktail</i> de 3 anticorpos monoclonais com a mesma sequência que o ZMapp mas produzido em células de mamífero. Usado à data em 2 doentes. A sua utilização não pode prejudicar o ensaio do ZMapp em curso.
BCX-4430 Biocryst, EUA	Trata-se de um análogo nucleósideo de ação direta e de largo espectro.

Tabela 6 – Fármacos com necessidade de ensaios pré-clínicos. Adaptada de ¹¹²

Fármacos já administrados em humanos para tratamento da doença por Ébola	Fármacos nunca administrados em humanos para tratamento da doença por Ébola
Zmab Atorvastatina + Irbesartan +/- Clomifeno FX06 Amiodarona	Azitromicina Amodiaquina Cloroquina Erlotinib / Sunitinib (Roche, EUA) Sertralina (Zoloft®) (Pfizer, EUA) Clomifeno

A combinação de agentes terapêuticos, como é o caso da combinação de ZMapp com favipiravir, parece ser benéfica, embora sejam necessários mais estudos ¹¹³.

Caso seja necessário tratar um doente em território nacional Portugal dispõe de um protocolo para solicitar o acesso a diferentes opções terapêuticas, nomeadamente plasma convalescente para transfusão ou os medicamentos em experimentação atrás referidos ¹¹⁴.

3.6.2.3 Atuação perante um caso suspeito em Portugal

O doente com sintomas sugestivos de infeção por vírus Ébola que se apresenta num serviço de saúde deverá ficar em isolamento nesse local, preferencialmente com uma máscara cirúrgica, e a sua mobilidade deve ser restrita ao indispensável. A assistência imediata deve ser também limitada à estritamente necessária, e prestada utilizando os EPI e o cumprimento rigoroso das medidas recomendadas para agentes biológicos de tipo 4, principalmente no momento de recolha de amostras biológicas, seguindo as recomendações previstas no Programa Nacional de Controlo da Infeção. Até à obtenção dos resultados laboratoriais os profissionais que prestaram assistência ao doente sem EPI adequado deverão limitar os seus contactos. Se o doente não se encontrar num hospital de referência (Centro Hospitalar de São João, Hospital Curry Cabral e Hospital D. Estefânia) deve ser transportado para um destes hospitais a partir do momento em o *caso suspeito* seja validado e passe a *caso provável*. Os laboratórios dos hospitais de referência asseguram os exames laboratoriais necessários, realizados de acordo com os protocolos internos criados para o efeito. Quando o resultado laboratorial é positivo a DGS deve informar o Delegado de Saúde Regional da área de residência do doente para a vigilância de contactos ¹⁰⁰.

3.7 Vacinas

O vírus Ébola tem algumas características que são favoráveis ao desenvolvimento de uma vacina efetiva, nomeadamente um pequeno genoma e uma única proteína de superfície, GP, que é simultaneamente o alvo para anticorpos neutralizadores e para as células T citotóxicas. Além disso os polimorfismos nos antígenos de cada espécie são limitados, o que torna este vírus muito diferente de outros, como o VIH, que causa infeção crónica com polimorfismos crescentes em cada indivíduo infetado. Também de forma diferente do influenza, que circula na população humana e sofre constantes processos de *antigenic drift* para evadir a resposta imunitária, o Ébola raramente infeta humanos e os hospedeiros da doença não têm uma vida muito longa, sendo pouco provável que sejam infetados múltiplas vezes durante a sua vida, o que resulta numa reduzida pressão seletiva para mutações nos antígenos virais.

À data da redação do trabalho não existe nenhuma vacina para o vírus Ébola licenciada para utilização em humanos, mas encontram-se em curso vários ensaios clínicos de vacinas candidatas, esperando-se uma vacina segura e eficaz no final de 2015. As duas vacinas atualmente em ensaios mais avançados são a vacina derivada do adenovírus tipo 3 que infeta chimpanzés (ChAd3), geneticamente modificado para expressar glicoproteínas do Ébola (ChAd3-ZEBOV), e a vacina resultante da recombinação do vírus da estomatite vesicular (VSV), que por engenharia genética expressa também a GP do vírus Ébola (VSV-EBOV) (**Figura 9**). Ambas as vacinas mostraram ser eficazes em ensaios em primatas não humanos e seguras e bem toleradas em humanos ¹¹⁵. Com a VSV-EBOV a proteção completa em primatas foi atingida com uma única dose administrada 7 dias antes da infeção, o que sugere que esta vacina pode ser usada para emergências de saúde pública imediatas ¹¹⁶.

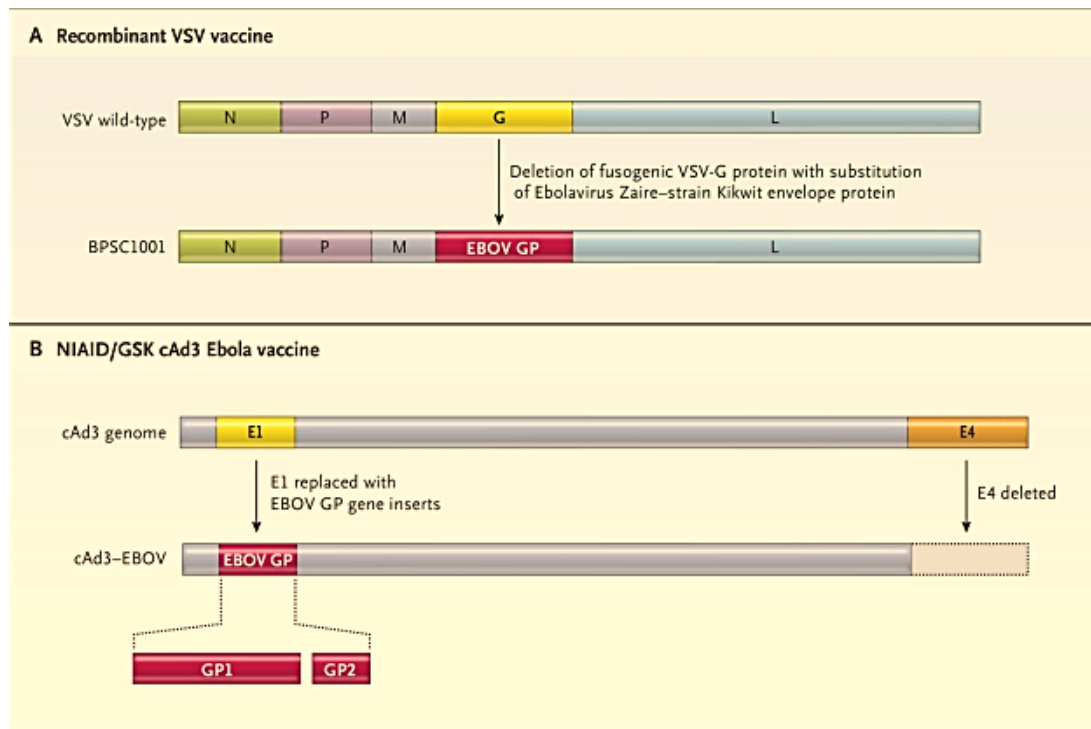


Figura 9 – Estrutura das vacinas candidatas rVSV e ChAd3. Retirada de ¹¹⁷

Mesmo que as perspectivas sejam asseguradas e haja uma vacina eficaz já no final deste ano os ensaios devem continuar no sentido de comparar as várias vacinas no que respeita à segurança e imunogenicidade, particularmente na população Africana em que a vacina será muito provavelmente necessária no futuro. Só com estes estudos haverá dados suficientes para permitir aos governos e à OMS selecionar vacinas apropriadas para armazenar. Nos países em que é mais provável a ocorrência de epidemias será útil existirem sempre alguns trabalhadores da área da saúde vacinados para que possa haver uma reação imediata às epidemias.

4 Conclusão

A epidemia de Ébola na África Ocidental foi catastrófica, causando milhares de infetados e de vítimas mortais. Contudo, e apesar do incalculável valor das mortes e do sofrimento causado, a epidemia fez-se acompanhar de alterações que podem ser encaradas de forma positiva, nomeadamente avanços consideráveis no conhecimento sobre o vírus Ébola e sobre a doença por ele causada, incluindo no seu tratamento e profilaxia. Além disso, e talvez ainda mais importante, a epidemia pode ter contribuído para alterar a forma como são encaradas e abordadas outras doenças até agora negligenciadas, assim como para relembrar a vulnerabilidade humana relativamente a doenças emergentes.

O vírus Ébola é investigado desde a sua descoberta, e desde cedo foram notórios os seus efeitos devastadores. No entanto a investigação nesta doença mereceu pouca prioridade, tendo sido escassamente financiada comparativamente com muitos outros projetos. A epidemia de 2014 alterou radicalmente este panorama, e o vírus recebeu de forma súbita um incrível protagonismo em todo o mundo. Para esse impulso certamente contribuiu, além do elevado número de casos, a incrível dispersão geográfica da epidemia, nomeadamente a importação de casos para fora do continente Africano que gerou insegurança a nível global e criou a necessidade de muito rapidamente renovar esforços na investigação da doença. Esta não foi aliás a primeira vez que um agente já conhecido mas até certo ponto negligenciado foi alvo de súbita atenção; também nos casos do Síndrome Respiratório Agudo Severo (SRAS), do vírus West Nile e do vírus Chikungunya houve um impulso considerável na investigação quando estas doenças atingiram a Europa e América do Norte ¹¹⁸. Ainda assim é de notar que a investigação realizada antes de 2014 foi essencial, dando lugar a que numa questão de meses estivessem a decorrer ensaios clínicos para novos fármacos e a perspectiva de uma vacina eficaz esteja, segundo as melhores previsões, a escassos meses de distância. Este rápido e bem-sucedido avanço na terapêutica e profilaxia leva no entanto à conclusão de que a única razão de não ter existido terapêutica eficaz

no início da epidemia é o facto de os financiadores da investigação não terem feito desse objetivo uma prioridade, talvez porque o Ébola não tenha sido percebido como uma ameaça real à escala global.

A facilidade e rapidez com que pessoas e doenças viajam no mundo atual parece fazer do planeta um lugar pequeno, e pelo menos em potencial todas as doenças transmissíveis, mesmo sem o potencial pandémico do Ébola, podem atingir qualquer país. Isto deve fazer refletir sobre a importância atribuída a certas doenças, tais como a Doença de Chagas, a Tripanossomíase Africana, a Leishmaniose, a Filaríase linfática ou a Schistosomíase, entre outras. Apesar da investigação nestas e noutras doenças tropicais negligenciadas ser financiada por alguns programas governamentais e não-governamentais é evidente que as necessidades são maiores do que o financiamento.

Além da atenção dirigida a doenças ditas negligenciáveis a atual epidemia veio sobretudo alertar para a emergência ou reemergência de doenças em determinados contextos ecológicos, sociais, políticos e económicos. A análise das últimas décadas mostrou que o Ébola se enquadra no padrão dominante das doenças emergentes. Este padrão diz respeito a eventos zoonóticos causados por alterações ambientais maioritariamente de origem antropogénica e por alterações de padrões de migração ¹¹⁹. Estes eventos estão a aumentar, e por isso a questão não é *se* existirá uma nova epidemia, mas sim *quando* será a próxima epidemia. É por isso necessário antecipar estratégias para mitigar futuros surtos, até porque o custo de controlar as epidemias é quase sempre maior do que o custo associado à sua prevenção. Uma das estratégias mais imediatas é a criação de métodos de diagnóstico, tratamentos e profilaxia eficazes. Esta foi de facto uma prioridade nesta epidemia, com bons resultados. Os recentes avanços nos métodos de diagnósticos à cabeceira do doente com resultados rápidos vão com certeza facilitar o controlo de novos casos, e os fármacos e vacinas em desenvolvimento terão um papel crucial em futuras epidemias de Ébola. Talvez os seus benefícios cheguem um pouco tarde, mas todo o

investimento e investigação é útil e deve continuar para que possa ser aplicado no futuro. No caso (quase certo) de o Ébola voltar a atingir a população humana estaremos com certeza mais bem preparados. No entanto a próxima epidemia ou pandemia pode não ser causada pelo vírus Ébola, mas por um outro agente. Em todo o caso os esforços e ensinamentos desta epidemia podem também ser usados para combater outros agentes patogénicos. A recente investigação em fatores ecológicos, nomeadamente o conhecimento sobre reservatórios e rotas migratórias de alguns animais pode ser “aproveitada” para futuras epidemias. As infraestruturas de saúde criadas e os protocolos implementados podem também ser rapidamente adaptáveis. De igual forma alguns programas de prevenção implementados no contexto da epidemia por Ébola podem ser úteis para evitar outros fenómenos zoonóticos, como por exemplo a educação das populações para que não consumam animais encontrados mortos na floresta, ou projetos mais ambiciosos que visam diminuir a dependência de consumo de caça através da domesticação de alguns animais selvagens ¹²⁰. O grande desafio consiste porém na implementação deste tipo de iniciativas em larga escala, já que implica o esforço integrado de governos de vários países, populações e indústrias que muitas vezes não partilham dos mesmos interesses e prioridades. As principais metas alcançadas na epidemia que podem com certeza servir de exemplo para crises futuras são o crescente envolvimento e cooperação internacionais. Apesar de algumas falhas iniciais terem sido cometidas é notório o interesse, a disponibilização de meios, fundos e de pessoas para o combate ao Ébola a um nível sem precedentes.

Finalmente resta dizer que apesar de a epidemia ter já fim à vista isso não significa que não haja mais nada a fazer nos principais países afetados. O vírus Ébola afetou uma região particularmente frágil e pobre do globo, devastada por repetidos conflitos, enormes desigualdades sociais e sem economias capazes de sustentar um sistema de saúde funcionante. Mesmo com o ambicionado fim da epidemia é necessário lembrar que estes países continuam com gravíssimos problemas, incluindo a nível da saúde. O impacto da epidemia nos

profissionais de saúde foi importante, o que deixou as instituições de saúde ainda mais fragilizadas para tratar outras doenças graves que continuam a ocorrer nestes locais, como a malária e a tuberculose. O final da epidemia não deve por isso significar o desmontar de toda a complexa estrutura elaborada para a combater. É importante enfatizar que a redução de casos foi conseguida através do aumento da capacidade de tratamento, da adoção de medidas epidemiológicas mais seguras e de uma rigorosa identificação de contactos. Foram portanto medidas de saúde pública e não fármacos ou vacinas que levaram ao controlo da epidemia. Torna-se assim essencial otimizar os procedimentos de controlo da infeção através de programas de educação, treino e garantia de material adequado e suficiente. É essencial perceber que a proteção de eventuais pandemias começa localmente, com investimento em medidas básicas que no fundo têm como objetivo a diminuição da pobreza global.

5 Agradecimentos

Agradeço ao Professor Doutor António Meliço-Silvestre pela orientação, tempo disponibilizado, apoio e sobretudo pela confiança em mim depositada.

Agradeço aos meus pais e aos meus amigos o incentivo e a paciência demonstrada.

Referências Bibliográficas

- 1 Kiley MP, Bowen ET, Eddy GA, Isaäcson M, Johnson KM, McCormick JB *et al.* Filoviridae: a taxonomic home for Marburg and Ebola viruses? *Intervirol* 1982; **18**: 24–32.
- 2 Negredo A, Palacios G, Vázquez-Morón S, González F, Dopazo H, Molero F *et al.* Discovery of an Ebolavirus-Like Filovirus in Europe. *PLoS Pathog* 2011; **7**: e1002304.
- 3 Jahrling PB, Geisbert TW, Dalgard DW, Johnson ED, Ksiazek TG, Hall WC *et al.* Preliminary report: isolation of Ebola virus from monkeys imported to USA. *Lancet* 1990; **335**: 502–5.
- 4 Wertheim JO, Kosakovsky Pond SL. Purifying selection can obscure the ancient age of viral lineages. *Mol Biol Evol* 2011; **28**: 3355–65.
- 5 Taylor DJ, Leach RW, Bruenn J. Filoviruses are ancient and integrated into mammalian genomes. *BMC Evol Biol* 2010; **10**: 193.
- 6 Carroll SA, Towner JS, Sealy TK, McMullan LK, Khristova ML, Burt FJ *et al.* Molecular evolution of viruses of the family Filoviridae based on 97 whole-genome sequences. *J Virol* 2013; **87**: 2608–16.
- 7 Kuhn JH, Bào Y, Bavari S, Becker S, Bradfute S, Brauburger K *et al.* Virus nomenclature below the species level: a standardized nomenclature for filovirus strains and variants rescued from cDNA. *Arch Virol* 2014; **159**: 1229–37.
- 8 Barrette RW, Metwally SA, Rowland JM, Xu L, Zaki SR, Nichol ST *et al.* Discovery of swine as a host for the Reston ebolavirus. *Science* 2009; **325**: 204–6.
- 9 Le Guenno B, Formenty P, Formentry P, Wyers M, Gounon P, Walker F *et al.* Isolation and partial characterisation of a new strain of Ebola virus. *Lancet* 1995; **345**: 1271–4.
- 10 Towner JS, Sealy TK, Khristova ML, Albariño CG, Conlan S, Reeder SA *et al.* Newly discovered ebola virus associated with hemorrhagic fever outbreak in Uganda. *PLoS Pathog* 2008; **4**: e1000212.
- 11 Roddy P, Howard N, Van Kerkhove MD, Lutwama J, Wamala J, Yoti Z *et al.* Clinical manifestations and case management of Ebola haemorrhagic fever caused by a newly identified virus strain, Bundibugyo, Uganda, 2007-2008. *PLoS One* 2012; **7**: e52986.
- 12 Ansari AA. Clinical features and pathobiology of Ebolavirus infection. *J Autoimmun* 2014; **55**: 1–9.
- 13 Mohan GS, Li W, Ye L, Compans RW, Yang C. Antigenic subversion: a novel mechanism of host immune evasion by Ebola virus. *PLoS Pathog* 2012; **8**: e1003065.
- 14 Iwasa A, Shimojima M, Kawaoka Y. sGP serves as a structural protein in Ebola virus infection. *J Infect Dis* 2011; **204 Suppl** : S897–903.
- 15 Elliott LH, Kiley MP, McCormick JB. Descriptive analysis of Ebola virus proteins. *Virology* 1985; **147**: 169–76.
- 16 Noda T, Ebihara H, Muramoto Y, Fujii K, Takada A, Sagara H *et al.* Assembly and budding of Ebolavirus. *PLoS Pathog* 2006; **2**: e99.
- 17 Groseth A, Charton JE, Sauerborn M, Feldmann F, Jones SM, Hoenen T *et al.* The Ebola virus ribonucleoprotein complex: a novel VP30-L interaction identified. *Virus Res* 2009; **140**: 8–14.

- 18 Beniac DR, Melito PL, Devarenes SL, Hiebert SL, Rabb MJ, Lamboo LL *et al.* The organisation of Ebola virus reveals a capacity for extensive, modular polyploidy. *PLoS One* 2012; **7**: e29608.
- 19 Cenciarelli O, Pietropaoli S, Malizia A, Carestia M, D'Amico F, Sassolini A *et al.* Ebola virus disease 2013-2014 outbreak in west Africa: an analysis of the epidemic spread and response. *Int J Microbiol* 2015; **2015**: e769121.
- 20 Takada A, Watanabe S, Ito H, Okazaki K, Kida H, Kawaoka Y. Downregulation of beta1 integrins by Ebola virus glycoprotein: implication for virus entry. *Virology* 2000; **278**: 20–6.
- 21 Saeed MF, Kolokoltsov AA, Albrecht T, Davey RA. Cellular entry of ebola virus involves uptake by a macropinocytosis-like mechanism and subsequent trafficking through early and late endosomes. *PLoS Pathog* 2010; **6**: e1001110.
- 22 Bavari S, Bosio CM, Wiegand E, Ruthel G, Will AB, Geisbert TW *et al.* Lipid raft microdomains: a gateway for compartmentalized trafficking of Ebola and Marburg viruses. *J Exp Med* 2002; **195**: 593–602.
- 23 Brecher M, Schornberg KL, Delos SE, Fusco ML, Saphire EO, White JM. Cathepsin cleavage potentiates the Ebola virus glycoprotein to undergo a subsequent fusion-relevant conformational change. *J Virol* 2012; **86**: 364–72.
- 24 Martinez O, Ndungo E, Tantral L, Miller EH, Leung LW, Chandran K *et al.* A mutation in the Ebola virus envelope glycoprotein restricts viral entry in a host species- and cell-type-specific manner. *J Virol* 2013; **87**: 3324–34.
- 25 Carette JE, Raaben M, Wong AC, Herbert AS, Obernosterer G, Mulherkar N *et al.* Ebola virus entry requires the cholesterol transporter Niemann-Pick C1. *Nature* 2011; **477**: 340–3.
- 26 Miller EH, Obernosterer G, Raaben M, Herbert AS, Deffieu MS, Krishnan A *et al.* Ebola virus entry requires the host-programmed recognition of an intracellular receptor. *EMBO J* 2012; **31**: 1947–60.
- 27 Olejnik J, Ryabchikova E, Corley RB, Mühlberger E. Intracellular events and cell fate in filovirus infection. *Viruses* 2011; **3**: 1501–31.
- 28 Organização Mundial de Saúde. Ebola haemorrhagic fever in Zaire, 1976. *Bull World Health Organ* 1978; **56**: 271–93.
- 29 Organização Mundial de Saúde. Ebola haemorrhagic fever in Sudan, 1976. Report of a WHO/International Study Team. *Bull World Health Organ* 1978; **56**: 247–70.
- 30 Kazanjian P. Ebola in Antiquity? *Clin Infect Dis* 2015. doi:10.1093/cid/civ418.
- 31 Centers for Disease Control and Prevention. Outbreaks Chronology: Ebola Virus Disease | Ebola Hemorrhagic Fever. Disponível em: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/outbreaks/history/chronology.html> (acedido a 16 agosto de 2015)
- 32 Baize S, Pannetier D, Oestereich L, Rieger T, Koivogui L, Magassouba N *et al.* Emergence of Zaire Ebola Virus Disease in Guinea - Preliminary Report. *N Engl J Med* 2014; **371**: 1418–25.
- 33 Kuhn JH. Filoviruses. A compendium of 40 years of epidemiological, clinical, and laboratory studies. *Arch Virol Suppl* 2008; **20**: 13–360.
- 34 The Lancet. A plan to protect the world--and save WHO. *Lancet* 2015; **386**: 103.
- 35 Tomori O. Will Africa's future epidemic ride on forgotten lessons from the Ebola epidemic? *BMC Med* 2015; **13**: 116.

- 36 Médicos Sem Fronteiras Internacional. Ebola: the failures of the international outbreak response. Disponível em: <http://www.msf.org/article/ebola-failures-international-outbreak-response> (acesso a 26 de agosto de 2015)
- 37 Nações Unidas - Meetings Coverage and Press Releases. Chance Ebola Can Be Defeated by End of 2015, World Health Organization Chief Tells Security Council, Urging Sustained Focus to Prevent Future Outbreaks |<http://www.un.org/press/en/2015/sc12006.doc.htm> (acedido a 27 de agosto de 2015)
- 38 Ebola haemorrhagic fever--fact sheet revised in May 2004. *Wkly Epidemiol Rec* 2004; **79**: 435–9.
- 39 Direção Geral de Saúde. Boletim Ébola nº11 de 23/07/2015. Disponível em: <http://www.ebola.dgs.pt/boletim.aspx> (acedido a 16 de agosto de 2015)
- 40 Kuhn JH, Andersen KG, Baize S, Bào Y, Bavari S, Berthet N *et al.* Nomenclature- and database-compatible names for the two Ebola virus variants that emerged in Guinea and the Democratic Republic of the Congo in 2014. *Viruses* 2014; **6**: 4760–99.
- 41 Organização Mundial de Saúde. Ebola Situation Reports | Ebola. Disponível em: <http://apps.who.int/ebola/ebola-situation-reports> (acedido a 2 de setembro de 2015)
- 42 Gire SK, Goba A, Andersen KG, Sealfon RSG, Park DJ, Kanneh L *et al.* Genomic surveillance elucidates Ebola virus origin and transmission during the 2014 outbreak. *Science* 2014; **345**: 1369–72.
- 43 Hoenen T, Safronetz D, Groseth A, Wollenberg KR, Koita OA, Diarra B *et al.* Virology. Mutation rate and genotype variation of Ebola virus from Mali case sequences. *Science* 2015; **348**: 117–9.
- 44 Park DJ, Dudas G, Wohl S, Goba A, Whitmer SLM, Andersen KG *et al.* Ebola Virus Epidemiology, Transmission, and Evolution during Seven Months in Sierra Leone. *Cell* 2015; **161**: 1516–26.
- 45 Carroll MW, Matthews DA, Hiscox JA, Elmore MJ, Pollakis G, Rambaut A *et al.* Temporal and spatial analysis of the 2014–2015 Ebola virus outbreak in West Africa. *Nature* 2015; **524**: 97–101.
- 46 Leroy EM, Kumulungui B, Pourrut X, Rouquet P, Hassanin A, Yaba P *et al.* Fruit bats as reservoirs of Ebola virus. *Nature* 2005; **438**: 575–6.
- 47 Pourrut X, Délicat A, Rollin PE, Ksiazek TG, Gonzalez J-P, Leroy EM. Spatial and temporal patterns of Zaire ebolavirus antibody prevalence in the possible reservoir bat species. *J Infect Dis* 2007; **196 Suppl** : S176–83.
- 48 Jaax NK, Davis KJ, Geisbert TJ, Vogel P, Jaax GP, Topper M *et al.* Lethal experimental infection of rhesus monkeys with Ebola-Zaire (Mayinga) virus by the oral and conjunctival route of exposure. *Arch Pathol Lab Med* 1996; **120**: 140–55.
- 49 Anti P, Owusu M, Agbenyega O, Annan A, Badu EK, Nkrumah EE *et al.* Human-Bat Interactions in Rural West Africa. *Emerg Infect Dis* 2015; **21**: 1418–1421.
- 50 Pigott DM, Golding N, Mylne A, Huang Z, Henry AJ, Weiss DJ *et al.* Mapping the zoonotic niche of Ebola virus disease in Africa. *Elife* 2014; **3**: e04395.
- 51 Walsh PD, Abernethy KA, Bermejo M, Beyers R, De Wachter P, Akou ME *et al.* Catastrophic ape decline in western equatorial Africa. *Nature* 2003; **422**: 611–4.
- 52 Chaber A-L, Allebone-Webb S, Lignereux Y, Cunningham AA, Marcus Rowcliffe J. The scale of illegal meat importation from Africa to Europe via Paris. *Conserv Lett* 2010; **3**: 317–321.
- 53 Piercy TJ, Smither SJ, Steward JA, Eastaugh L, Lever MS. The survival of filoviruses in liquids, on solid substrates and in a dynamic aerosol. *J Appl Microbiol* 2010; **109**: 1531–9.

- 54 Allela L, Boury O, Pouillot R, Délicat A, Yaba P, Kumulungui B *et al.* Ebola virus antibody prevalence in dogs and human risk. *Emerg Infect Dis* 2005; **11**: 385–90.
- 55 Moyen N, Thirion L, Emmerich P, Dzia-Lepfoundzou A, Richet H, Boehmann Y *et al.* Risk Factors Associated with Ebola and Marburg Viruses Seroprevalence in Blood Donors in the Republic of Congo. *PLoS Negl Trop Dis* 2015; **9**: e0003833.
- 56 Bausch DG, Towner JS, Dowell SF, Kaducu F, Lukwiya M, Sanchez A *et al.* Assessment of the risk of Ebola virus transmission from bodily fluids and fomites. *J Infect Dis* 2007; **196 Suppl** : S142–7.
- 57 Feldmann H, Geisbert TW. Ebola haemorrhagic fever. *Lancet* 2011; **377**: 849–62.
- 58 Zaki SR, Goldsmith CS. Pathologic features of filovirus infections in humans. *Curr Top Microbiol Immunol* 1999; **235**: 97–116.
- 59 Klompas M, Yokoe DS. The Ebola transmission paradox. *Am J Infect Control* 2015; **43**: 786–7.
- 60 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. *J Virol* 2004; **78**: 4330–41.
- 61 Weingartl HM, Embury-Hyatt C, Nfon C, Leung A, Smith G, Kobinger G. Transmission of Ebola virus from pigs to non-human primates. *Sci Rep* 2012; **2**: 811.
- 62 Hewlett BL, Hewlett BS. Providing care and facing death: nursing during Ebola outbreaks in central Africa. *J Transcult Nurs* 2005; **16**: 289–97.
- 63 Chan M. Ebola virus disease in West Africa--no early end to the outbreak. *N Engl J Med* 2014; **371**: 1183–5.
- 64 Organização Mundial de Saúde. Health worker Ebola infections in Guinea, Liberia and Sierra Leone. Disponível em: <http://www.who.int/csr/resources/publications/ebola/health-worker-infections/en/> (acedido a 16 de agosto de 2015)
- 65 Guimard Y, Bwaka MA, Colebunders R, Calain P, Massamba M, De Roo A *et al.* Organization of patient care during the Ebola hemorrhagic fever epidemic in Kikwit, Democratic Republic of the Congo, 1995. *J Infect Dis* 1999; **179 Suppl** : S268–73.
- 66 Sagripanti J-L, Rom AM, Holland LE. Persistence in darkness of virulent alphaviruses, Ebola virus, and Lassa virus deposited on solid surfaces. *Arch Virol* 2010; **155**: 2035–9.
- 67 Rodriguez LL, De Roo A, Guimard Y, Trappier SG, Sanchez A, Bressler D *et al.* Persistence and genetic stability of Ebola virus during the outbreak in Kikwit, Democratic Republic of the Congo, 1995. *J Infect Dis* 1999; **179 Suppl** : S170–6.
- 68 Leroy EM, Baize S, Volchkov VE, Fisher-Hoch SP, Georges-Courbot MC, Lansoud-Soukate J *et al.* Human asymptomatic Ebola infection and strong inflammatory response. *Lancet* 2000; **355**: 2210–5.
- 69 Bray M, Geisbert TW. Ebola virus: the role of macrophages and dendritic cells in the pathogenesis of Ebola hemorrhagic fever. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; **37**: 1560–6.
- 70 Falasca L, Agrati C, Petrosillo N, Di Caro A, Capobianchi MR, Ippolito G *et al.* Molecular mechanisms of Ebola virus pathogenesis: focus on cell death. *Cell Death Differ* 2015; **22**: 1250–1259.
- 71 Heffernan RT, Pambo B, Hatchett RJ, Leman PA, Swanepoel R, Ryder RW. Low seroprevalence of IgG antibodies to Ebola virus in an epidemic zone: Ogooué-Ivindo region, Northeastern Gabon, 1997. *J Infect Dis* 2005; **191**: 964–8.

- 72 Leroy EM, Baize S, Debre P, Lansoud-Soukate J, Mavoungou E. Early immune responses accompanying human asymptomatic Ebola infections. *Clin Exp Immunol* 2001; **124**: 453–60.
- 73 United Nations Development Group. Socio-Economic Impact of Ebola Virus Disease in West African Countries. Disponível em: <http://www.africa.undp.org/content/dam/rba/docs/Reports/ebola-west-africa.pdf> (acedido a 19 de agosto de 2015)
- 74 Dowell SF, Mukunu R, Ksiazek TG, Khan AS, Rollin PE, Peters CJ. Transmission of Ebola hemorrhagic fever: a study of risk factors in family members, Kikwit, Democratic Republic of the Congo, 1995. Commission de Lutte contre les Epidémies à Kikwit. *J Infect Dis* 1999; **179 Suppl** : S87–91.
- 75 Agua-Agum J, Ariyaratnam A, Blake IM, Cori A, Donnelly CA, Dorigatti I *et al.* Ebola virus disease among children in West Africa. *N Engl J Med* 2015; **372**: 1274–7.
- 76 Glynn JR. Age-specific incidence of Ebola virus disease. *Lancet* 2015; **386**: 432.
- 77 Okware SI, Omaswa FG, Zaramba S, Opio A, Lutwama JJ, Kamugisha J *et al.* An outbreak of Ebola in Uganda. *Trop Med Int Health* 2002; **7**: 1068–75.
- 78 Baron RC, McCormick JB, Zubeir OA. Ebola virus disease in southern Sudan: hospital dissemination and intrafamilial spread. *Bull World Health Organ* 1983; **61**: 997–1003.
- 79 Qin E, Bi J, Zhao M, Wang Y, Guo T, Yan T *et al.* Clinical Features of Patients With Ebola Virus Disease in Sierra Leone. *Clin Infect Dis* 2015; **61**: 491–5.
- 80 Schieffelin JS, Shaffer JG, Goba A, Gbakie M, Gire SK, Colubri A *et al.* Clinical illness and outcomes in patients with Ebola in Sierra Leone. *N Engl J Med* 2014; **371**: 2092–100.
- 81 Cunha BA. The diagnostic significance of relative bradycardia in infectious disease. *Clin Microbiol Infect* 2000; **6**: 633–4.
- 82 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. *J Infect Dis* 1999; **179 Suppl** : S1–7.
- 83 Ebola Virus Disease in West Africa - The First 9 Months of the Epidemic and Forward Projections. *N Engl J Med* 2014; **371**: 1481–95.
- 84 Jeffs B. A clinical guide to viral haemorrhagic fevers: Ebola, Marburg and Lassa. *Trop Doct* 2006; **36**: 1–4.
- 85 Chertow DS, Kleine C, Edwards JK, Scaini R, Giuliani R, Sprecher A. Ebola virus disease in West Africa—clinical manifestations and management. *N Engl J Med* 2014; **371**: 2054–7.
- 86 Kreuels B, Wichmann D, Emmerich P, Schmidt-Chanasit J, de Heer G, Kluge S *et al.* A case of severe Ebola virus infection complicated by gram-negative septicemia. *N Engl J Med* 2014; **371**: 2394–401.
- 87 Bah EI, Lamah M-C, Fletcher T, Jacob ST, Brett-Major DM, Sall AA *et al.* Clinical presentation of patients with Ebola virus disease in Conakry, Guinea. *N Engl J Med* 2015; **372**: 40–7.
- 88 Geisbert TW, Hensley LE, Larsen T, Young HA, Reed DS, Geisbert JB *et al.* Pathogenesis of Ebola hemorrhagic fever in cynomolgus macaques: evidence that dendritic cells are early and sustained targets of infection. *Am J Pathol* 2003; **163**: 2347–70.
- 89 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. *Emerg Infect Dis* 2010; **16**: 1969–72.

- 90 Khan AS, Tshioko FK, Heymann DL, Le Guenno B, Nabeth P, Kerstiëns B *et al.* The reemergence of Ebola hemorrhagic fever, Democratic Republic of the Congo, 1995. Commission de Lutte contre les Epidémies à Kikwit. *J Infect Dis* 1999; **179 Suppl** : S76–86.
- 91 Larsen T, Stevens EL, Davis KJ, Geisbert JB, Daddario-DiCaprio KM, Jahrling PB *et al.* Pathologic findings associated with delayed death in nonhuman primates experimentally infected with Zaire Ebola virus. *J Infect Dis* 2007; **196 Suppl** : S323–8.
- 92 Baize S, Leroy EM, Georges-Courbot MC, Capron M, Lansoud-Soukate J, Debré P *et al.* Defective humoral responses and extensive intravascular apoptosis are associated with fatal outcome in Ebola virus-infected patients. *Nat Med* 1999; **5**: 423–6.
- 93 Mupere E, Kaducu OF, Yoti Z. Ebola haemorrhagic fever among hospitalised children and adolescents in northern Uganda: epidemiologic and clinical observations. *Afr Health Sci* 2001; **1**: 60–5.
- 94 Akerlund E, Prescott J, Tampellini L. Shedding of Ebola Virus in an Asymptomatic Pregnant Woman. *N Engl J Med* 2015; **372**: 2467–9.
- 95 Ascenzi P, Bocedi A, Heptonstall J, Capobianchi MR, Di Caro A, Mastrangelo E *et al.* Ebolavirus and Marburgvirus: insight the Filoviridae family. *Mol Aspects Med* 2008; **29**: 151–85.
- 96 Formenty P, Hatz C, Le Guenno B, Stoll A, Rogenmoser P, Widmer A. Human infection due to Ebola virus, subtype Côte d'Ivoire: clinical and biologic presentation. *J Infect Dis* 1999; **179 Suppl** : S48–53.
- 97 Rollin PE, Bausch DG, Sanchez A. Blood chemistry measurements and D-Dimer levels associated with fatal and nonfatal outcomes in humans infected with Sudan Ebola virus. *J Infect Dis* 2007; **196 Suppl** : S364–71.
- 98 Sharma N, Cappell MS. Gastrointestinal and Hepatic Manifestations of Ebola Virus Infection. *Dig Dis Sci* 2015. doi:10.1007/s10620-015-3691-z.
- 99 Clark D V, Kibuuka H, Millard M, Wakabi S, Lukwago L, Taylor A *et al.* Long-term sequelae after Ebola virus disease in Bundibugyo, Uganda: a retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis* 2015; **15**: 905–12.
- 100 Direção Geral de Saúde. Orientação número 012/2014 de 08/08/2014 Atualizada a 01/12/2014. (acedido a 27 de agosto de 2015)
- 101 Strecker T, Palyi B, Ellerbrok H, Jonckheere S, de Clerck H, Bore JA *et al.* Field Evaluation of Capillary Blood Samples as a Collection Specimen for the Rapid Diagnosis of Ebola Virus Infection During an Outbreak Emergency. *Clin Infect Dis* 2015; **61**: 669–75.
- 102 Organização Mundial de Saúde. Selection and use of Ebola in vitro diagnostic (IVD) assays. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/175554/1/WHO_EVD_HIS_EMP_15.2_eng.pdf?ua=1 (acedido a 6 de setembro de 2015)
- 103 Organização Mundial de Saúde. Target Product Profile for Zaire ebolavirus rapid, simple test to be used in the control of the Ebola outbreak in West Africa. Disponível em: <http://www.who.int/medicines/publications/target-product-profile.pdf?ua=1> (acedido a 17 de agosto de 2015)
- 104 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. *J Infect Dis* 1999; **179 Suppl** : S177–87.
- 105 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 Epidémies à Kikwit. *J Infect Dis* 1999; **179 Suppl** : S28–35.
- 106 Organização Mundial de Saúde. First Antigen Rapid Test for Ebola through Emergency Assessment and Eligible for Procurement. Disponível em: http://www.who.int/medicines/ebola-treatment/1st_antigen_RT_Ebola/en/ (acedido a 28 de agosto de 2015)
- 107 Martines RB, Ng DL, Greer PW, Rollin PE, Zaki SR. Tissue and cellular tropism, pathology and pathogenesis of Ebola and Marburg viruses. *J Pathol* 2015; **235**: 153–74.
- 108 Choi JH, Croyle MA. Emerging targets and novel approaches to Ebola virus prophylaxis and treatment. *BioDrugs* 2013; **27**: 565–83.
- 109 Mupapa K, Massamba M, Kibadi K, Kuvula K, Bwaka A, Kipasa M *et al.* Treatment of Ebola hemorrhagic fever with blood transfusions from convalescent patients. International Scientific and Technical Committee. *J Infect Dis* 1999; **179 Suppl** : S18–23.
- 110 Sayburn A. WHO gives go ahead for experimental treatments to be used in Ebola outbreak. *BMJ* 2014; **349**: e5161.
- 111 Smee DF, Hurst BL, Egawa H, Takahashi K, Kadota T, Furuta Y. Intracellular metabolism of favipiravir (T-705) in uninfected and influenza A (H5N1) virus-infected cells. *J Antimicrob Chemother* 2009; **64**: 741–6.
- 112 Organização Mundial de Saúde. Categorization and prioritization of drugs for consideration for testing or use in patients infected with Ebola. Disponível em: http://www.who.int/medicines/ebola-treatment/2015_0703TablesOfEbolaDrugs.pdf?ua=1 (acedido em 24 de agosto de 2015)
- 113 Haque A, Hober D, Blondiaux J. Addressing therapeutic options for Ebola virus infection in current or future outbreaks. *Antimicrob Agents Chemother* 2015. doi:10.1128/AAC.01105-15.
- 114 Direcção Geral de Saúde. Orientações do INFARMED de Acesso a Terapêuticas Experimentais para doença por vírus Ébola, revisão a 30/10/2014. Disponível em: <http://www.ebola.dgs.pt/profissionais.aspx> (acedido a 24 de agosto de 2015)
- 115 Organização Mundial de Saúde. WHO | Ebola vaccines, therapies, and diagnostics. 2015. http://www.who.int/medicines/emp_ebola_q_as/en/ (acedido a 5 de setembro de 2015).
- 116 Marzi A, Robertson SJ, Haddock E, Feldmann F, Hanley PW, Scott DP *et al.* VSV-EBOV rapidly protects macaques against infection with the 2014/15 Ebola virus outbreak strain. *Science* 2015; **349**: 739–42.
- 117 Kanapathipillai R, Henao Restrepo AM, Fast P, Wood D, Dye C, Kieny M-P *et al.* Ebola vaccine--an urgent international priority. *N Engl J Med* 2014; **371**: 2249–51.
- 118 Jones KE, Patel NG, Levy MA, Storeygard A, Balk D, Gittleman JL *et al.* Global trends in emerging infectious diseases. *Nature* 2008; **451**: 990–3.
- 119 Janes CR, Corbett KK, Jones JH, Trostle J. Emerging infectious diseases: the role of social sciences. *Lancet* 2012; **380**: 1884–6.
- 120 Castillo-Chavez C, Curtiss R, Daszak P, Levin SA, Patterson-Lomba O, Perrings C *et al.* Beyond Ebola: lessons to mitigate future pandemics. *Lancet Glob Heal* 2015; **3**: e354–5.