

Sara Maria Tábuas da Cunha Pereira

Vacina Contra o Vírus Ébola: Desafios e Perspetivas

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Olga Borges e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Sara Maria Tábuas da Cunha Pereira, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o número 2010138631, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

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

Coimbra, 11 de Setembro de 2015.

Agradecimentos

À Prof.^a Doutora Olga Borges, pela orientação, pelo paciente trabalho de revisão da redação e pelas sábias e pertinentes sugestões.

Aos meus pais, pelo apoio incondicional.

Aos meus amigos da Faculdade, pelo estímulo nas alturas mais difíceis.

Índice

	Página
Abreviaturas	2
Resumo	3
Introdução	4
1. Classificação taxonómica do vírus Ébola	5
2. Epidemiologia e situação atual	6
3. Estrutura viral e estratégia de replicação	9
4. Patogénese do vírus	11
5. Diagnóstico laboratorial da infeção pelo vírus Ébola	14
6. Estratégias terapêuticas	14
7. Vacinas em desenvolvimento	15
7.1. ChAd3-ZEBOV (GlaxoSmithKline)	16
7.2. VSV-ZEBOV (NewLink Genetics e Merck)	17
7.3. Ad26-EBOV e MVA-EBOV (Johnson&Johnson e Bavarian Nordic)	21
7.4. EBOV-GP (Novavax)	21
Conclusão	24
Referências bibliográficas	25

Abreviaturas

BEBOV – *Bundibugyo ebolavirus*

BUN – Nitrogénio Ureico Sanguíneo

DNA – ácido desoxirribonucleico

EBOV – *Zaire ebolavirus*

ELISA – *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

GMT – Média Geométrica do Título

GP – glicoproteína

ICEBOV – *Tai Forest ebolavirus/Côte d'Ivoire ebolavirus*

ICTV – Comité Internacional de Taxonomia de Vírus

IFN – Interferão

IgG – Imunoglobulina G

IgM – Imunoglobulina M

IL – Interleucina

MCP-I – proteína quimiotática de monócitos-I

mRNA – ácido ribonucleico mensageiro

NBS-4 – nível de biossegurança 4

NP – nucleoproteína

OMS – Organização Mundial de Saúde

PCR – reação em cadeia da polimerase

PU – *particle units*

PUF – *plaque-forming unit*

REBOV – *Reston ebolavirus*

RNA – ácido ribonucleico

RT-PCR – reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa

SEBOV – *Sudan ebolavirus*

sGP – glicoproteína secretada

STRIVE – *Sierra Leone Trial to Introduce a Vaccine against Ebola*

TNF – Fator de Necrose Tumoral

VP24 – Proteína viral 24 (vírus Ébola)

VP30 – Proteína viral 30 (vírus Ébola)

VP35 – Proteína viral 35 (vírus Ébola)

VP40 – Proteína viral 40 (vírus Ébola)

VSV – Vírus da Estomatite Vesicular

ZEBOV – *Zaire ebolavirus*

Resumo

O vírus Ébola é responsável por um síndrome de febre hemorrágica grave no Homem, sendo os morcegos o seu mais provável reservatório natural. É um vírus extremamente virulento e de fácil transmissão, maioritariamente através de fluidos corporais. A complexa fisiopatologia da doença, caracterizada pela imunossupressão e estímulo de uma intensa resposta inflamatória, resulta muitas vezes na morte do indivíduo infetado. O seu diagnóstico nem sempre é claro, devido à sintomatologia inicial mimetizar outras doenças comuns. Apesar das altas taxas de mortalidade, que podem ascender aos 90 %, não existe ainda aprovado qualquer método terapêutico ou profilático eficaz. No entanto, encontram-se em desenvolvimento diversas vacinas e terapias experimentais, algumas delas com resultados clínicos já publicados.

Palavras-chave: vírus Ébola, síndrome de febre hemorrágica, epidemia, ensaios clínicos, vacina.

Abstract

The Ebola virus is responsible for a severe hemorrhagic fever syndrome in humans and bats are considered its natural reservoir. It is an extremely virulent virus and easily transmitted through body fluids. The complex pathophysiology of the disease, characterized by immunosuppression and stimulation of an intense inflammatory response, often results in death of the infected individual. The diagnosis is not always clear, because the initial symptoms mimic other common diseases. Despite the high mortality rates, which can amount to 90 %, there is no therapeutic or prophylactic method approved. However, there are several vaccines and experimental therapies in development, some of them with published clinical results.

Keywords: Ebola virus, hemorrhagic fever syndrome, outbreak, clinical trials, vaccine.

Introdução

Considerando que o vírus Ébola é responsável por uma doença infecciosa sem uma solução terapêutica ou profilática eficaz e cuja taxa de mortalidade pode atingir os 90 %, surgiu um interesse para a investigação sobre o assunto, tendo sido definido o tema da presente monografia: “Vacina contra o vírus Ébola - desafios e perspectivas”.

De modo a compreender os pressupostos do desenvolvimento de uma vacina contra este vírus, será investigada, nesta monografia, a taxonomia do vírus, a sua constituição e estrutura, a forma como se reproduz no hospedeiro e qual o seu reservatório natural. Será também analisada a forma como surgiu a epidemia de 2014 nos vários países africanos, a sua evolução, os surtos anteriores e a situação atual. Os sintomas e efeitos fisiológicos no Homem, o modo como o vírus interage com o sistema imunitário, o mecanismo pelo qual provoca hemorragias, quase sempre fatais ao ser humano, bem como os métodos de diagnóstico da infeção, serão também assuntos de extrema importância para o tema em estudo.

Somente após a abordagem destas matérias será possível investigar e compreender as estratégias terapêuticas aplicadas no combate ao vírus Ébola, nomeadamente a forma de minimizar a sua propagação. A prevenção da transmissão do vírus apenas será possível com o desenvolvimento de uma vacina eficaz. Assim, conhecer as vacinas em desenvolvimento, sobretudo aquelas que a bibliografia apresenta como mais promissoras, as fases de ensaio clínico em que se encontram e os resultados relativos aos seus perfis de segurança e eficácia, serão assuntos extensivamente analisados. A presente revisão bibliográfica tem como objetivo contextualizar os assuntos supracitados.

I. Classificação taxonómica do vírus Ébola

De acordo com a classificação taxonómica mais recente de vírus, estabelecida pelo Comité Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV), o vírus Ébola pertence à ordem *Mononegvirales*, à família *Filoviridae* e ao género *Ebolavirus*, que conta atualmente com cinco espécies identificadas: *Bundibugyo ebolavirus* (BEBOV), *Reston ebolavirus* (REBOV), *Sudan ebolavirus* (SEBOV), *Tai Forest ebolavirus* (ou *Côte d'Ivoire ebolavirus*, ICEBOV) e *Zaire ebolavirus* (ZEBOV ou EBOV). Para além do género *Ebolavirus*, a família *Filoviridae* inclui também outros dois géneros: *Cuevavirus* e *Marburgvirus* [1] (Figura 1).

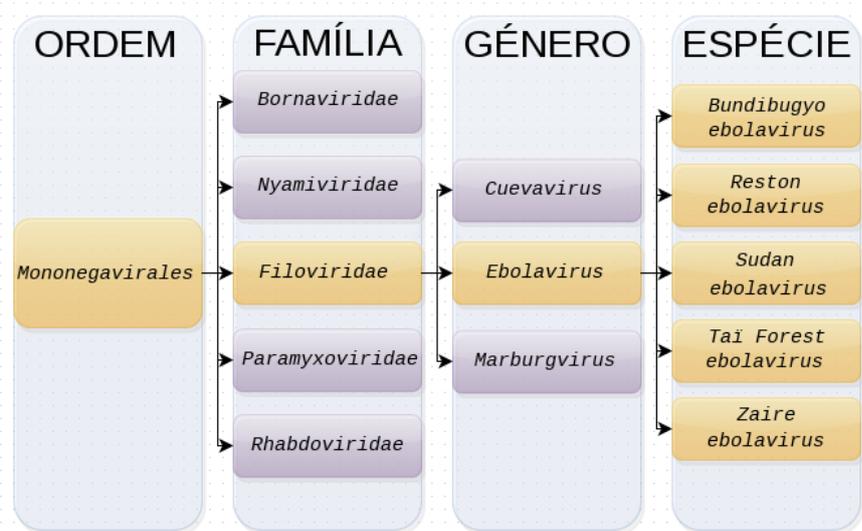


Figura 1. Classificação taxonómica do vírus Ébola, de acordo com o Comité Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV).

Todos os vírus do género *Ebolavirus* de origem africana infetam humanos e causam-lhe sintomas semelhantes, mas variam em termos de progressão da doença e virulência, com taxas de mortalidade a variar desde 40 % para o *Bundibugyo ebolavirus* até aproximadamente 50 % para o *Sudan ebolavirus* e 70 % a 90 % para o *Zaire ebolavirus*. Por outro lado, a virulência do *Tai Forest ebolavirus* é difícil de avaliar, uma vez que até à data houve apenas um caso reportado, em 1994 na Costa do Marfim [2,3]. No que diz respeito ao *Reston ebolavirus*, a única espécie asiática identificada, parece causar infeções assintomáticas em humanos [3].

Pelo facto de apresentar a maior taxa de mortalidade de entre as espécies do seu género e por ter sido a responsável pela epidemia de 2014, este trabalho irá focar-se sobretudo na espécie *Zaire ebolavirus*, que será referida ao longo do texto como vírus Ébola.

2. Epidemiologia e situação atual

Os primeiros casos de febre hemorrágica por filovírus foram reportados em 1967 na Alemanha e na atual Jugoslávia, em trabalhadores de um laboratório de vacinas [1,4]. Em novembro desse ano, o agente infeccioso foi isolado a partir do sangue das vítimas, visualizado através de microscopia eletrônica e posteriormente designado por vírus Marburg devido à localização inicial daquele surto. Algumas evidências sugerem que o vírus foi transmitido devido à exposição dos trabalhadores do laboratório a macacos da espécie *Cercopithecus aethiops* que estariam infetados. No entanto, uma vez que a esta altura os animais já tinham sido sacrificados, o agente nunca foi isolado diretamente dos macacos e esta teoria nunca pôde ser confirmada [4].

Apesar do reservatório natural do vírus Ébola permanecer desconhecido, a evidência científica disponível sugere que os morcegos das espécies *Hypsignathus monstrosus*, *Epomops franqueti* e *Myonycteris torquata* sejam o reservatório natural mais provável do vírus Ébola [5,6]. A forma como o vírus é transmitido dos morcegos para as pessoas não está completamente esclarecida, apesar de se pensar que seja através de fluidos corporais que deixam na fruta que é posteriormente consumida por outros animais [7]. Já a transmissão entre humanos é feita através do contacto direto com sangue, fezes, urina ou outros fluidos corporais infetados com o vírus, que entra para o organismo através de epitélio danificado ou das mucosas. O contacto direto com cadáveres durante os rituais fúnebres em alguns países, por exemplo, é uma das formas mais frequentes de transmissão da doença entre as comunidades africanas, uma vez que é na fase terminal da doença que o vírus mais facilmente se transmite (por existir em maior quantidade nos fluidos corporais) [8]. Embora não esteja comprovado que o vírus Ébola seja transmitido pelo ar, sabe-se que pode tornar-se em aerossol. Sob essa forma, 50 % das partículas do vírus mantêm-se viáveis durante cerca de 15 minutos e são necessários 104 minutos para 99 % da concentração inicial do vírus ser inativada [4]. Contudo, vírus de RNA envelopados, de que são exemplo os filovírus, são instáveis e relativamente fáceis de inativar, tendo, inclusivamente, a *US Occupational Safety and Health Administration* publicado uma lista extensiva de agentes inativadores do vírus Ébola em superfícies. Na ausência desses agentes, uma simples solução aquosa de hipoclorito de sódio a 10 % é uma alternativa eficaz [4].

Mais tarde, em 1976, casos similares de febre hemorrágica foram descritos perto do rio Ébola, na República Democrática do Congo (antigo Zaire), razão pela qual o vírus é assim hoje denominado. Para além disso, esta doença foi simultaneamente observada no sul do Sudão e no norte do Zaire. Hoje sabe-se que foi causada por duas espécies diferentes: *Sudan ebolavirus* (SEBOV) e *Zaire ebolavirus* (ZEBOV), denominadas assim devido à localização desses

mesmos focos [9]. Durante um longo período de tempo, apenas um pequeno surto voltou a ser registado em 1979, tendo ocorrido nas mesmas áreas da epidemia de 1976 do Sudão.

De 1994 a 1997, vários outros surtos foram reportados no Gabão e no Zaire e uma nova espécie do vírus ébola, o *Tai Forest ebolavirus*, patogénico para o ser humano, foi isolado a partir de um caso único. Desde 2000, o número de surtos de Ébola aumentou no continente africano, fazendo desta epidemia uma questão grave de saúde pública em África [10,11].

A epidemia de febre hemorrágica causada pelo vírus Ébola observada em 2014 no oeste de África foi o maior surto que ocorreu após 1976, principalmente porque atingiu áreas urbanas com elevada densidade populacional, tendo a esmagadora maioria das vítimas sido infetada pelo *Zaire ebolavirus* [1,4]. De acordo com a investigação epidemiológica, o primeiro caso deste surto foi o de uma criança de dois anos, que acabou por morrer em dezembro de 2013 na aldeia de Meliandou (Guéckédou), na Guiné [12].

No dia 23 de março de 2014, a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou, oficialmente, a existência de um surto da doença do vírus Ébola [13]. Durante a primavera e verão de 2014, a doença espalhou-se para países vizinhos: Serra Leoa, Libéria e Nigéria. Em julho, o número de casos aumentou rapidamente, particularmente na capital da Guiné (Conacri), da Serra Leoa (Freetown) e da Libéria (Monróvia) (Figura 2), tendo a OMS, no dia

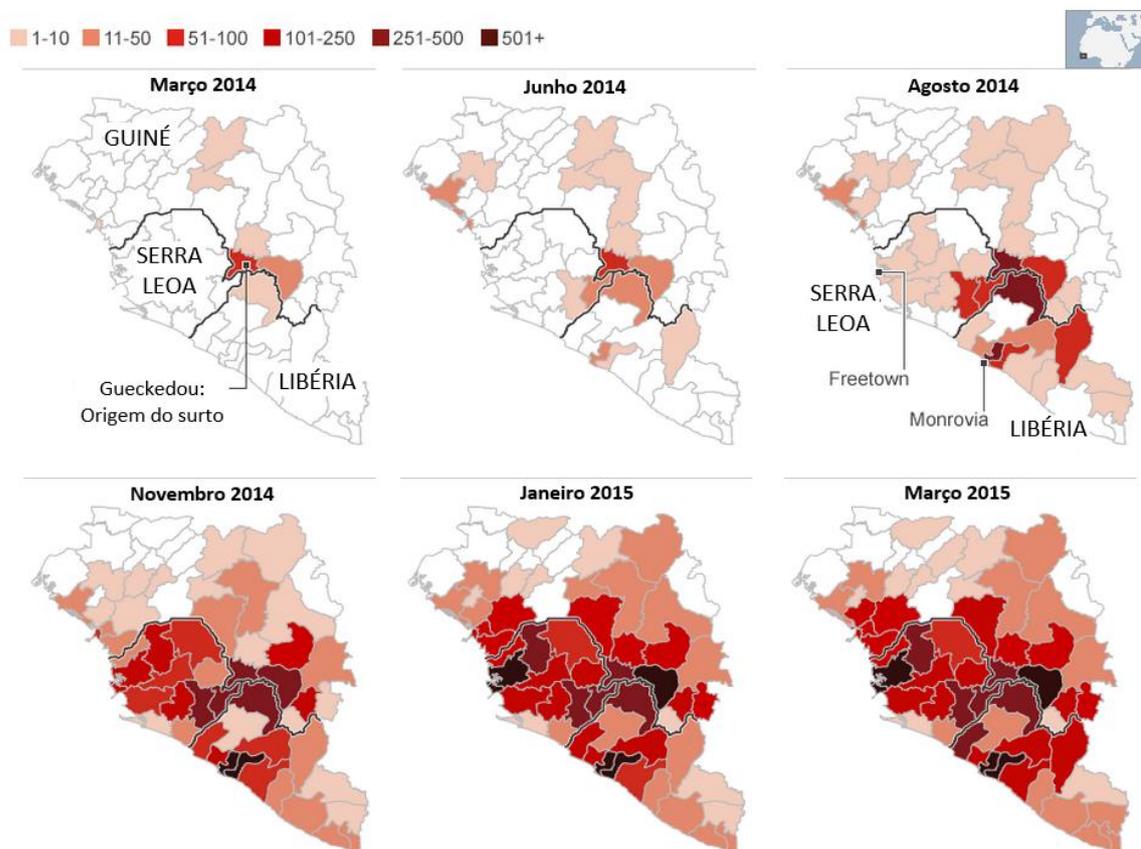


Figura 2. Evolução do número total de casos na Guiné, Serra Leoa e Libéria entre os meses de março de 2014 e março de 2015. O pico da transmissão ocorreu entre agosto e outubro de 2014. (Traduzido e adaptado de: BBC: Ebola – Mapping the outbreak, 2015) [15]

8 do mês seguinte, declarado tratar-se de uma emergência de saúde pública de preocupação internacional [4].

O pico da transmissão, de acordo com a OMS, decorreu entre os meses de agosto e outubro de 2014, altura em que havia países a declarar várias centenas de casos por semana. Depois disso, tem-se vindo a verificar uma queda consistente no número de casos de Ébola ao longo dos meses [14,15].

A OMS declarou o fim do surto na Libéria no dia 9 de maio de 2015. Um país é considerado livre da transmissão do vírus Ébola quando se perfaz um total de 42 dias após o último doente, em isolamento, se tornar laboratorialmente negativo para o vírus (42 dias correspondem ao dobro de 21, que é a duração do período de incubação do vírus) [16]. Posteriormente, a Libéria entrou num período de 3 meses de vigilância reforçada, durante o qual cerca de 45 amostras de sangue e do epitélio da mucosa oral de potenciais casos do vírus Ébola eram recolhidas e analisadas por dia. No entanto, no dia 29 de junho de 2015, foi novamente registado um caso de uma vítima mortal resultante do vírus [17].

Em julho de 2015, o número de casos reportados na Libéria, Guiné e Serra Leoa rondou os 20 por semana. Já no mês de agosto, em nenhuma semana foram ultrapassados os 5 casos (Figura 3) [14,18].

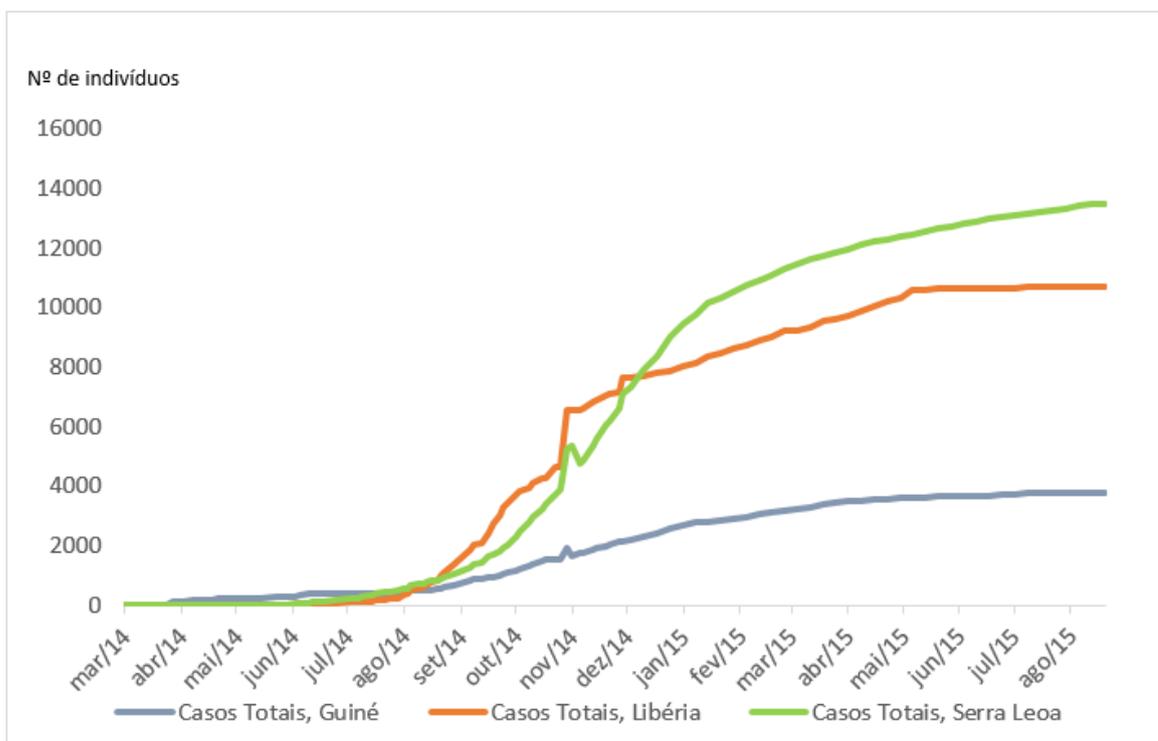


Figura 3. Número total de casos de doença provocada pelo vírus Ébola (suspeitos, prováveis e confirmados) na Guiné, Libéria e Serra Leoa, de dia 25 março de 2014 até dia 16 de agosto de 2015. n=27952. O gráfico permite avaliar a evolução da transmissão do vírus nos três países africanos mais afetados pela epidemia e concluir que a progressão da doença abrandou sobretudo a partir do mês de maio de 2015. (Retirado de: CDC - 2014 Ebola Outbreak in West Africa - Reported Cases Graphs, 2015) [18]

3. Estrutura viral e estratégia de replicação

Para o processo de desenvolvimento de vacinas e de estratégias de terapêutica antiviral, é fundamental a compreensão, quer da estrutura viral, quer dos mecanismos subjacentes à infecção pelo vírus Ébola.

Os filovírus são vírus envelopados com cadeia simples de RNA de polaridade negativa (-ssRNA) e de estrutura filamentosa. As partículas virais têm 80 nm de diâmetro e variam em comprimento, podendo ir até aos 14 µm [8]. Devido ao formato dos vírus, o nome da família *Filoviridae* deriva da palavra latina “*filum*”, que significa filiforme [1].

O genoma do vírus ébola tem aproximadamente 19 kb em comprimento e codifica sete proteínas estruturais: a nucleoproteína (NP), o cofator da polimerase (VP35), as duas proteínas da matriz (VP40 e VP24), a RNA-polimerase RNA-dependente (polimerase L) e a glicoproteína (GP); e uma pequena proteína não-estrutural: a sGP (glicoproteína secretada) (Figura 4) [1,8].

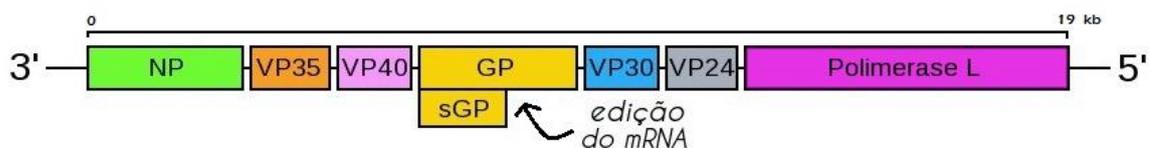


Figura 4. Genoma da espécie *Zaire ebolavirus*, que codifica 7 proteínas estruturais e uma não estrutural (sGP). (Traduzido e adaptado de Kanapathipillai, 2015) [8]

O gene da GP origina duas proteínas diferentes: uma glicoproteína que faz parte do envelope do vírus e uma proteína não estrutural (sGP), que é libertada para o exterior da célula infetada.

A proteína sGP é o produto primário do gene da GP. Resulta do mRNA ainda não editado e é secretada em grandes quantidades pelas células hospedeiras. Alguns investigadores admitem que esta proteína, por ser tão semelhante à GP, possa funcionar como uma “armadilha” para o sistema imunitário: ao ser secretada para fora da célula, a sGP vai levar à produção de anticorpos anti-sGP, desviando as atenções da glicoproteína do envelope (GP) e permitindo que o vírus circule de uma maneira mais subtil [19,20].

A glicoproteína (GP), ao ser a única proteína localizada no envelope (Figura 5), tem um papel fundamental na ligação aos recetores das células hospedeiras. O vírus, uma vez dentro da célula, necessita de se replicar e, para tal, necessita de produzir novas glicoproteínas. Tal

só é possível após uma edição na transcrição, processo através do qual a polimerase L altera, por fenômenos de poliadenilação, o mRNA formado a partir do gene da GP [8,19].

O envelope resulta da membrana da célula hospedeira e está envolvido por várias projeções de glicoproteína, codificada no genoma viral, cada uma com cerca de 10 nm de comprimento e cobertas por cadeias de hidratos de carbono, que as “escondem” do sistema imunitário [21].

A proteína VP40 da matriz do vírus está localizada junto ao envelope viral, auxiliando na manutenção da integridade estrutural e mediando a excisão do vírus para fora da célula hospedeira. A proteína VP24 é necessária na correta montagem de uma nucleocápside funcional e suprime a produção de interferão [19,21-23].

A nucleocápside viral é composta pelo genoma de RNA em cadeia simples, empacotado com a nucleoproteína (NP), com a proteína VP30 e com o complexo da polimerase (cofator VP35 e polimerase L). O cofator VP35 e a polimerase L têm uma dupla função no ciclo de reprodução viral: estão envolvidos como componentes estruturais, mas também como componentes catalisadores da replicação e transcrição do genoma [19].

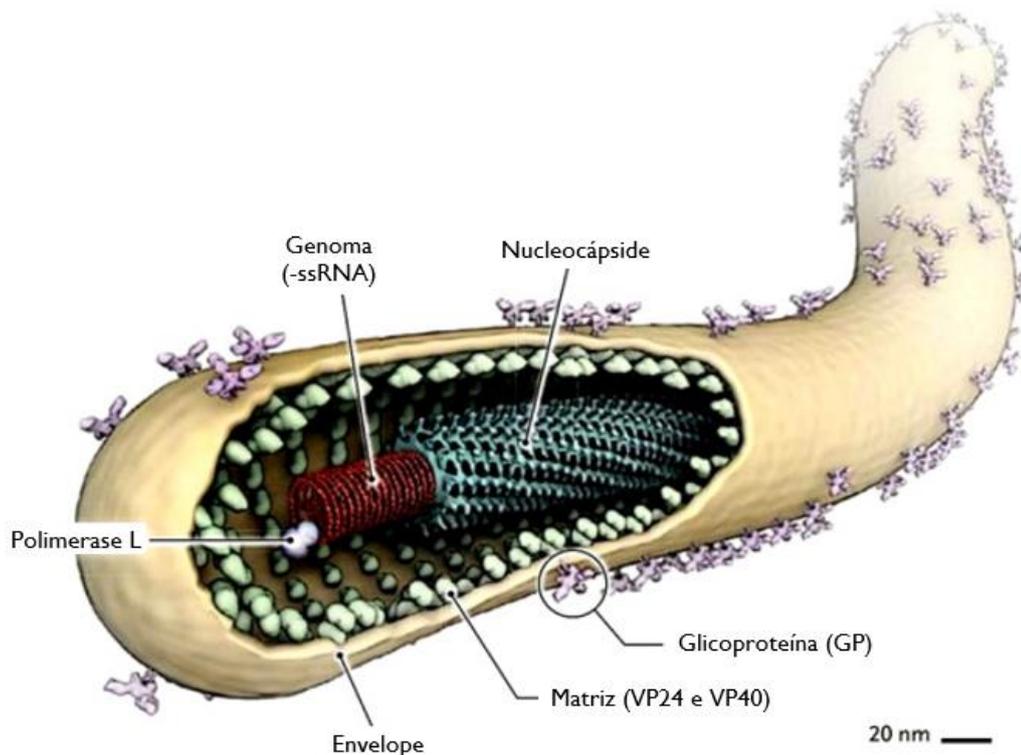


Figura 5. Estrutura do vírus Ébola.
(Traduzido e adaptado de: Zhang, 2014) [23]

4. Patogênese do vírus

O ciclo de vida do vírus Ébola começa com a ligação do virião a recetores específicos na membrana da célula hospedeira, mediada pela glicoproteína presente no envelope viral. A natureza lipídica do envelope facilita a fusão com a célula hospedeira e a entrada do vírus, permitindo a libertação da nucleocápside para o citoplasma. A internalização da nucleocápside dá início aos processos de transcrição e replicação. Para obter novas partículas virais, a polimerase L começa por produzir uma cadeia de RNA(+) a partir do genoma do vírus (-ssRNA), que servirá de molde a novas cadeias de genoma viral. Simultaneamente, vão sendo produzidas todas as proteínas estruturais necessárias ao vírus, incluindo novas polimerases L. Por fim, ocorre a reunião e montagem de todos os componentes virais formados e dá-se a libertação de novos viriões. O envelope viral é adquirido a partir da membrana da célula hospedeira, que inclui proteínas virais, aquando da evaginação da nova partícula viral para o exterior (Figura 6) [5,24].

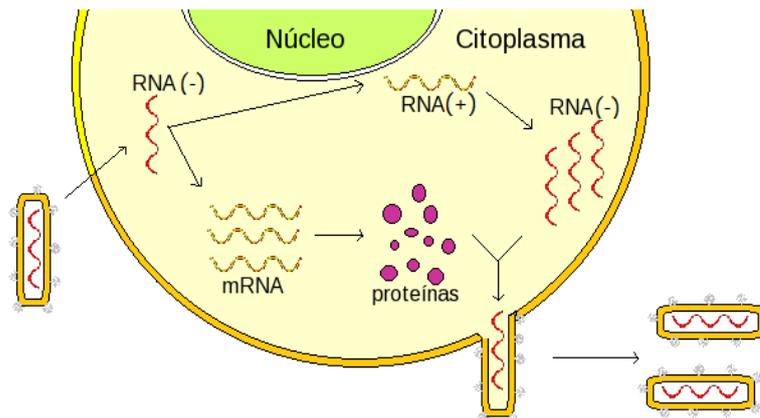


Figura 6. Esquema de replicação do vírus Ébola na célula hospedeira. A nucleocápside entra para dentro da célula, onde há produção de proteínas estruturais e de cadeias de RNA(-) iguais à original. Após a montagem dos componentes formados, a nova partícula viral é libertada para fora da célula hospedeira.

(Traduzido e adaptado de: Prime Health Channel - Ebola Virus: Symptoms, Pictures, Structure, Facts and History, 2011) [24]

As altas taxas de letalidade do vírus Ébola no homem explicam-se pela sua abordagem altamente estratégica ao organismo humano: numa primeira fase, suprime quase por completo a resposta do sistema imunitário, permitindo que o vírus replique descontroladamente e se dissemine pelo organismo; de seguida, afeta o sistema vascular, provocando hemorragias fatais. Após entrada no organismo, o alvo prioritário do vírus são as células dendríticas, os monócitos e os macrófagos (células apresentadoras de antígeno) [5,25]. Deixando de haver células apresentadoras de antígeno funcionais, as células T *naive* não são ativadas e, por isso, não se

desencadeia uma resposta adaptativa eficaz. Este tipo de resposta é também inibido pela perda de linfócitos que caracteriza a infecção pelo vírus Ébola: apesar de estas células não serem infetadas, elas entram em apoptose, presumivelmente induzidas pelos mediadores inflamatórios libertados (mecanismo explicado mais à frente). [26].

Outro mecanismo viral, inviabilizador de uma resposta imunitária competente, é explicado pela presença das proteínas virais VP24 e VP35, que são responsáveis pelo bloqueio da produção de interferões de tipo I (IFN α/β) e, conseqüentemente, pelo bloqueio da cascata de sinalização que se desencadearia numa resposta imunitária normal [25,27,28].

Por outro lado, a infecção das células dendríticas, dos monócitos e dos macrófagos conduz à elevada produção de mediadores inflamatórios e citocinas, tais como a IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , a proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1), as eotaxinas (quimioatratadores eosinófilos) e também de óxido nítrico, mediador da hipotensão por indução da vasodilatação [5,25,28]. A “tempestade” de citocinas que se origina é responsável pela atração de células inflamatórias (neutrófilos e eosinófilos) para os tecidos infetados, induzindo febre, coagulopatia e aumento da permeabilidade endotelial [5,25].

Numa fase mais avançada, o vírus difunde-se para os órgãos linfoides secundários e para o fígado, onde ocorre uma replicação viral massiva. A esta altura, a infecção pelo vírus Ébola é associada a coagulação intravascular disseminada, o que leva ao consumo elevado de fatores de coagulação. A presença de pequenos coágulos de sangue ao longo dos vasos diminui, por um lado, a integridade vascular e, por outro, reduz o fornecimento de sangue aos órgãos, o que provoca a queda abrupta da pressão arterial, falência de múltiplos órgãos, choque séptico e, por fim, a morte [25].

As manifestações hemorrágicas não chegam a estar presentes em todos os doentes infetados [2]. No entanto, quando surge, este síndrome hemorrágico pode variar quanto à complexidade. Inicialmente podem surgir equimoses ou petéquias, sendo também frequentes relatos de sangramento das gengivas, diarreia ou vômitos acompanhados de sangue. Os casos mais graves caracterizam-se por episódios de hemorragias externas intensas, onde o sangue é expelido através de vários orifícios corporais: boca, olhos, nariz, ouvidos e ânus [5,29]. Este fenómeno hemorrágico é uma consequência de um somatório de vários fatores: o aumento da permeabilidade dos vasos, induzido pelos mediadores proinflamatórios; o efeito citopático que conduz à necrose hepática e que, por isso, compromete a produção dos fatores de coagulação; a formação de coágulos que diminuem a integridade dos vasos sanguíneos e a necrose dos tecidos [25].

Ao nível dos órgãos, o vírus Ébola tem um efeito devastador. Ao limitar o suprimento sanguíneo aos tecidos, vai progressivamente potenciando o seu colapso, impedindo-os de executar as suas funções básicas. No caso do cérebro, surge uma acumulação de fluidos (edema), o que provoca convulsões. A falência do fígado, órgão básico da coordenação biológica, exacerba ainda mais as hemorragias, uma vez que deixa de haver produção de fatores de coagulação, como já foi referido. Ao nível das glândulas suprarrenais, deixa de existir produção de hormonas esteroides, grupo onde se inclui a aldosterona, fundamental no processo de regulação da pressão arterial. O declínio destes órgãos é acompanhado pela falência dos restantes por mecanismos semelhantes, conduzindo o organismo ao colapso total [25,30,31].

A complexidade do que internamente se passa no organismo de um indivíduo infetado com o vírus traduz-se numa manifestação clínica, que varia de acordo com a progressão da infeção. Durante o período de incubação (entre 2 a 21 dias), a infeção pelo vírus Ébola é assintomática e, por isso, passa despercebida. Os primeiros sintomas que surgem são inespecíficos, podendo até o diagnóstico confundir-se com o de uma gripe. De seguida, a condição do doente deteriora-se rapidamente, podendo culminar com a morte do indivíduo cerca de 10 dias após o início dos sintomas. A Figura 7 ilustra, de forma sequencial, a progressão da doença. Na grande maioria dos doentes infetados, surgem sinais e sintomas como febres altas, mialgias, mal-estar geral, sintomas gastrointestinais (náuseas, vômitos, dor abdominal, diarreia), sintomas respiratórios (dor no peito, dispneia, tosse, rinorreia), a nível vascular (hipotensão, hemorragia) e a nível neurológico (cefaleias, confusão, convulsões, encefalopatia, coma) [25,29,32]. Apenas numa minoria dos casos se verifica um síndrome gripal simples com recuperação total e sobrevivência [25].

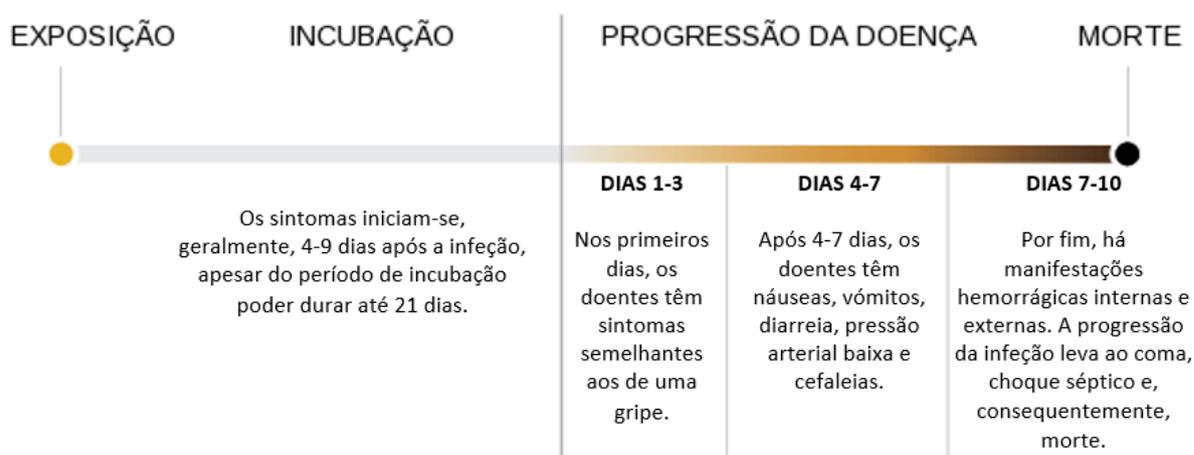


Figura 7. Etapas do desenvolvimento da doença provocada pelo vírus Ébola. (Traduzido e adaptado de: The Huffington Post - What Actually Happens When A Person Is Infected With The Ebola Virus., 2014) [32]

5. Diagnóstico laboratorial da infeção pelo vírus Ébola

Em caso de suspeita de infeção pelo vírus Ébola, torna-se importante a investigação de aspetos como a história médica completa, viagens realizadas, histórico de trabalho e possíveis exposições a animais selvagens num passado recente [5].

Os exames laboratoriais que são realizados inicialmente incluem testes básicos de sangue: hemogramas completos com análise de enzimas hepáticas, bilirrubina, níveis de creatinina, ureia (BUN) e pH. Para confirmação do diagnóstico, recorre-se a outras técnicas laboratoriais mais específicas, que tal como noutras infeções, devem ser adaptadas à fase da infeção em que é mais provável o doente estar (Figura 7). No início da infeção, cerca de 2-3 dias após a exposição ao vírus, é utilizada a técnica de PCR para deteção do genoma viral, assim como também se tenta detetar a presença de anticorpos IgM através de testes ELISA. Do dia 4 ao dia 10, a estratégia passa por tentar identificar a presença do antigénio ou de anticorpos IgG. Tendo em consideração que a maioria dos doentes morre por volta do décimo dia, o título de IgG é determinado sobretudo em exames retrospectivos [5,29].

6. Estratégias terapêuticas

Apesar de diversas terapias se encontrarem sob investigação, ainda não existe qualquer tratamento específico para a infeção provocada pelo vírus Ébola. O tratamento padrão limita-se a uma terapia de suporte com o objetivo de: equilibrar os eletrólitos e fluidos do doente, via oral ou intravenosa; manter estáveis a pressão arterial e a oxigenação; administrar anticoagulantes na fase precoce da infeção, para prevenir a coagulação intravascular disseminada; administrar agentes coagulantes na fase mais tardia da infeção, de modo a estancar as hemorragias; controlar a febre e as dores (evitando utilizar aspirina ou ibuprofeno, para não aumentar o risco de hemorragia) e tratar outras infeções que possam eventualmente surgir. A instituição da terapêutica numa fase precoce da doença aumenta a probabilidade da sobrevivência do doente. Indivíduos com suspeita de infeção pelo vírus Ébola devem ser imediatamente isolados [5].

A transfusão de sangue e plasma de indivíduos que estejam em fase de convalescência da infeção tem sido um método utilizado em centros de tratamento da Serra Leoa. Um doente infetado pelo vírus que receba uma transfusão de sangue ou plasma de um indivíduo que tenha recuperado da mesma doença terá um aporte de anticorpos que o podem auxiliar a combater a infeção. Na realidade, estão a decorrer vários ensaios clínicos de fase II e III para avaliar

melhor a eficácia deste método terapêutico [33]. Porém, existem outras alternativas em estudo, apresentadas resumidamente na Tabela I.

Tabela I. Fármacos atualmente em ensaios clínicos para o tratamento da infecção pelo vírus Ébola e respetivo mecanismo terapêutico. (Traduzido e adaptado de: Bishop, 2015) [34]

Nome do fármaco	Mecanismo terapêutico	Fase do ensaio clínico
CMX001 (Brincidofovir)	- Via oral. - É um pró-fármaco do cidofovir. O cidofovir, a nível intracelular, aumenta a atividade contra cadeias duplas de DNA. Apesar do vírus Ébola ser de cadeia simples de RNA, parece haver o mesmo efeito.	II
ZMapp	- Injetável. - É uma combinação de três anticorpos monoclonais humanizados, produzidos através de recombinação, que se ligam ao vírus e o inativam.	II
T-705 ou Avigan (Favipiravir)	- Via oral. - Composto antiviral (pirazina) que inibe a RNA-polimerase RNA-dependente. Utilizado no vírus da gripe.	II
TKM-Ebola	- Injetável. - Uma sequência de RNA que cliva o RNA do vírus Ébola na células, impedindo a replicação.	II
BCX4430	- Via oral ou intramuscular. - Composto antiviral que inibe a RNA-polimerase RNA-dependente.	I
AVI-7537	- Injetável. - Oligómero de morfolino fosforodiamidato, que se liga a um dos sete genes do vírus Ébola, impedindo a replicação.	I

7. Vacinas em desenvolvimento

Atualmente, não está autorizada qualquer vacina que confira proteção contra o vírus Ébola em humanos. No entanto, na tentativa de obter uma vacina segura até ao final de 2015, estão neste momento a decorrer diversos ensaios clínicos com várias vacinas candidatas [33].

A vacina ideal, no caso da doença provocada pelo vírus Ébola, seria aquela que, após uma administração única, revelasse ter a capacidade de conferir uma proteção rápida, humoral e celular, com potencial para funcionar a longo prazo e com a reatividade necessária para ser considerada multivalente, ou seja, capaz de proteger contra todas as espécies da família *Filoviridae* patogénicas para o ser humano (o que inclui estirpes do vírus Marburg e do vírus Ébola) [2,35].

O vírus Ébola tem inúmeras particularidades que podem constituir uma verdadeira barreira para os investigadores. Por ser um vírus tão perigoso, requer laboratórios de nível de biossegurança 4 (NBS-4) para ser estudado, limitando, assim, o seu estudo experimental;

pode surgir com diferentes morfologias (é um vírus pleomórfico) devido à VP40, o que complica a etapa de *design* de fármacos, que tem que ter em consideração todas essas formas; o arranjo espacial da partícula viral pode ser um impedimento na altura dos anticorpos estabelecerem ligação com as glicoproteínas, por ter uma densidade elevada das mesmas no envelope. Para além disso, para que ocorra infeção, são necessárias poucas partículas e estas são rapidamente internalizadas para dentro das células por fenómenos de macropinocitose, limitando a probabilidade de interação com anticorpos; tem um tropismo celular variado, o que explica a sua distribuição pelos vários órgãos e o que exige uma enorme quantidade de anticorpos dispersos pelo organismo inteiro; através da sGP, consegue um mecanismo de evasão que funciona como uma “armadilha” para o sistema imunitário [19,20,28].

Porém, apesar de todos estes obstáculos, são vários os motivos que tornam investigação de uma vacina contra o Ébola, num objetivo de prioridade máxima. Seria ingénuo pensar que a ameaça do vírus Ébola se restringe apenas aos países africanos com sistemas de saúde precários, quando o vírus Ébola pode ser utilizado como uma arma perfeita de bioterrorismo, numa altura em que as estratégias terapêuticas são ainda muito escassas. A procura de uma medida profilática eficaz é de interesse mundial e, por isso, têm sido diversificados os esforços para encontrar uma solução o mais rapidamente possível.

Neste sentido, várias vacinas estão atualmente em ensaios clínicos, das quais se destacam quatro: ChAd3-ZEBOV (GlaxoSmithKline), VSV-ZEBOV (NewLink Genetics e Merck), Ad26-EBOV e MVA-EBOV (Johnson&Johnson e Bavarian Nordic) e EBOV-GP (Novavax) [33].

7.1. ChAd3-ZEBOV (GlaxoSmithKline)

A vacina ChAd3-ZEBOV é uma vacina recombinante, composta por adenovírus de chimpanzé do tipo 3, geneticamente modificados (Figura 8) para expressar a glicoproteína do vírus *Zaire ebolavirus* [33]. A vacina foi desenvolvida pela GlaxoSmithKline, em colaboração com o *US National Institute of Allergy and Infectious Diseases* [36]. Os ensaios de fase II e III estão a decorrer, havendo já resultados publicados relativos à fase I (Tabela II) [37,38].

Esses resultados de fase I, que correspondem a dois ensaios diferentes, permitem concluir que os efeitos adversos locais e sistémicos observados não são suficientes para colocar em questão o perfil de segurança da vacina. A febre, quando observada, foi ligeira e facilmente ultrapassada com recurso a medicação antipirética. Em alguns participantes dos ensaios, foram detetados anticorpos antifosfolipídicos. No entanto, este fenómeno foi transitório e já foi reportado anteriormente em estudos de outras vacinas que utilizam

adenovírus como vetores. Em termos de eficácia, os resultados obtidos são positivos e encorajam uma avaliação mais aprofundada da resposta imunitária, o que será certamente esclarecido com ensaios de fase II [37,38].

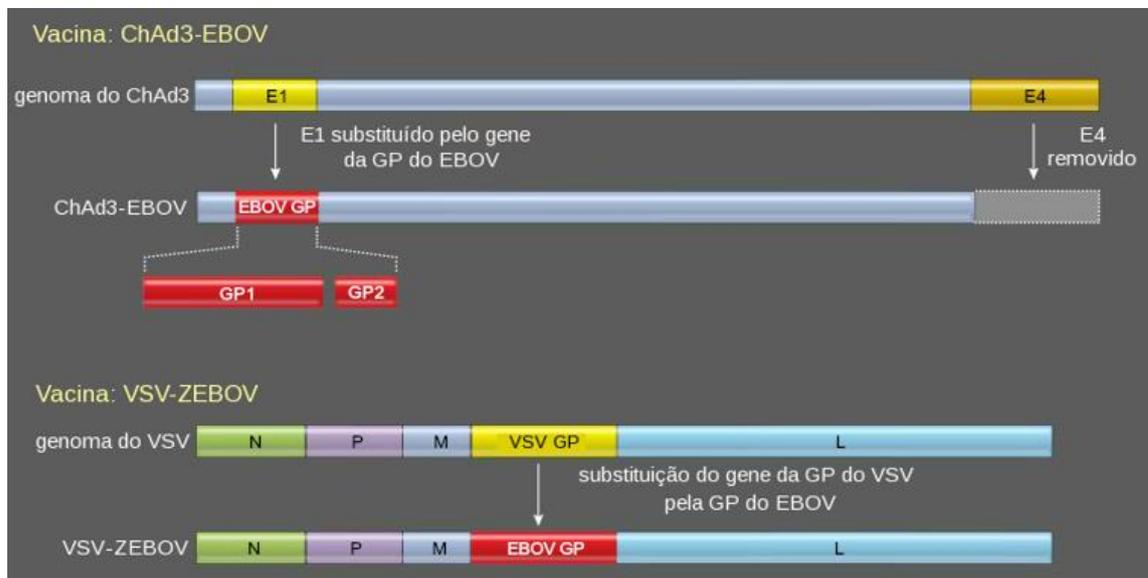


Figura 8. Estrutura genética dos vetores utilizados nas vacinas ChAd3-EBOV e VSV-ZEBOV. (Traduzido e adaptado de Kanapathipillai, 2015) [8]

7.2. VSV-ZEBOV (NewLink Genetics e Merck)

A VSV-ZEBOV utiliza uma versão geneticamente modificada do vírus da estomatite vesicular (VSV), um vírus que infeta gado e alguns animais domésticos e que, neste caso particular, vetoriza o gene do vírus Ébola que codifica a glicoproteína do envelope (Figura 8). Em humanos, a infecção pelo VSV não é grave e apresenta sintomas suaves, semelhantes aos da gripe [22,33,39]. Esta vacina foi desenvolvida pela NewLink Genetics e pela Merck, em colaboração com a *Public Health Agency of Canada* [36]. Ensaios de fase I nos EUA, Alemanha, Gabão e Suíça confirmaram a segurança desta vacina, apesar de alguns efeitos adversos reportados (Tabela 3). Os mais frequentes foram: dor no local da injeção, mialgia, fadiga, cefaleias, febre ligeira e tremores. No entanto, num dos estudos com esta vacina e contrariamente ao expectável pelos investigadores, alguns participantes relataram dores nas articulações, efeito que foi maioritariamente reportado pelos participantes da Suíça (22 % dos participantes). Os investigadores colocam a hipótese de que este efeito se deva ao ciclo lítico do vírus que destrói as células sinoviais, ou à deposição de complexos anticorpo-antígeno nas articulações, ou ainda a uma doença autoimune desencadeada pelo vírus, sendo este último mecanismo o menos provável, uma vez que uma doença autoimune não é despoletada assim tão rapidamente. Relativamente à eficácia, os dados ainda são escassos, mas pode concluir-se

que se trata de uma vacina imunogénica entre as doses de 3×10^5 e 5×10^7 PFU, com maior título de anticorpos registado para as maiores doses [22,39].

O estudo STRIVE (*Sierra Leone Trial to Introduce a Vaccine against Ebola*) é um ensaio clínico combinado, de fase II e III, que está atualmente a ser conduzido na Serra Leoa. Para além do STRIVE, um outro ensaio de fase III está a decorrer na Guiné, com alguns resultados provisórios publicados [40,41]. O relatório que contém esses resultados foi divulgado no dia 31 de julho de 2015 e apresenta resultados de um estudo que incluiu uma amostra populacional de 7651 indivíduos, vacinados intramuscularmente com uma dose de 2×10^7 PFU. O ensaio destaca-se por utilizar uma estratégia de vacinação em anel. Esta estratégia consiste em vacinar os indivíduos com maior risco de infeção, que são os que apresentam ligações geográficas ou sociais com doentes já infetados pelo vírus. Assim, sempre que um novo caso é identificado, toda a povoação envolvente é vacinada, de modo a formar um anel de imunidade [40]. Este tipo de estudo pode trazer vantagens, porque permite avaliar a eficácia em indivíduos que estão ou podem ter estado expostos ao vírus, ao contrário de estudos realizados em amostras sobre as quais não se tem sequer a certeza de terem contactado com o vírus. Numa altura em que se assiste à queda progressiva no número de casos de Ébola, este *design* de vacinação é promissor, uma vez que a diminuição da transmissão da infeção pode ser um obstáculo na apreciação direta da eficácia em ensaios clínicos atualmente em curso: se diminui a taxa de transmissão do vírus, também diminui a probabilidade de exposição ao vírus dos participantes dos ensaios, o que implica que os resultados obtidos não sejam estatisticamente válidos por existir uma sobrevalorização da eficácia da vacina [42].

Porém, neste tipo de estudo, nem todos os indivíduos são imediatamente vacinados: uma parte dos participantes é vacinada com um ligeiro atraso e é esta particularidade que, no fim de contas, permite avaliar a eficácia da vacina. Numa primeira análise, os investigadores compararam a incidência da doença provocada pelo vírus Ébola nos indivíduos que tinham sido imediatamente vacinados ($n=4123$) com os que tinham sido vacinados após uns dias ($n=3528$). Desta análise, concluiu-se que a incidência da doença no primeiro grupo foi de 0 %, enquanto que no segundo grupo houve a confirmação de 16 casos de infeção [40]. Apesar dos resultados extremamente positivos e de muito se especular sobre uma eficácia de 100 %, é ainda muito cedo para o afirmar. O estudo prossegue e os resultados finais podem ser mais esclarecedores quanto a esta questão, na medida em que ainda os resultados, para além de provisórios, são ainda pouco detalhados.

Tabela 2. Análise do perfil de segurança e da resposta imunitária da vacina ChAd3-ZEBOV em indivíduos adultos, referentes a ensaios de fase I.

Vacina testada (laboratório)	Fase	Composição da vacina	População do estudo	Doses testadas	Perfil de segurança	Resultados					Fonte
						Perfil de eficácia					
						Resposta humoral (dia 28)	Resposta celular ‡ (dia 28)	Pesquisa de vírus (dia 14)			
cAd3-EBO GlaxoSmithKline, em colaboração com o National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID)	I	Adenovírus-3 de chimpanzé, a expressar a GP da espécie <i>Zaire ebolavirus</i> e <i>Sudan ebolavirus</i> , num rácio de 1:1	N = 20	2 x 10 ¹⁰ PU	+	Média	CD4 ⁺ , n/N	CD8 ⁺ , n/N	sangue	urina	Saliva
						Geométrica do Título de anticorpos (GMT) †	3/10 (30%)	2/10 (20%)	ND	ND	ND
ChAd3-ZEBOV GlaxoSmithKline, em colaboração com o NIAID	I	Adenovírus-3 de chimpanzé, a expressar a GP da espécie <i>Zaire ebolavirus</i>	N = 60	2,5 x 10 ¹⁰ PU	+	235	5/10 (50%)	2/10 (20%)	ND	ND	ND
						402	10/14 (71%)	9/14 (64%)	ND	ND	ND
						469	12/13 (92%)	7/13 (54%)	ND	ND	ND

† A média geométrica do título de anticorpos foi avaliada através de ensaios imunoenzimáticos (ELISA).

‡ As respostas celulares foram definidas através da deteção da expressão de citocinas (IFN- γ , IL-2 e TNF) em resposta à estimulação com peptídeos da glicoproteína, através do método de marcação de citocinas intracelulares (ICS).

+: seguro, sem efeitos adversos apreciáveis.

ND: não determinado.

NOTA: Os resultados não estão padronizados entre os vários ensaios, uma vez que os laboratórios utilizam métodos de determinação dos parâmetros imunológicos e instrumentos diferentes para avaliar as suas amostras. Desse modo, não é correta uma comparação entre os vários resultados.

Tabela 3. Análise do perfil de segurança e da resposta imunitária da vacina VSV-ZEBOV em indivíduos adultos, referentes a ensaios de fase I.

Vacina testada (laboratório)	Fase	Composição da vacina	População do estudo	Doses testadas	Perfil de segurança	Resultados					Fonte
						Perfil de eficácia					
						Resposta humoral (dia 28)	Resposta celular (dia 28)	Pesquisa de vírus (dia 14)			
Média Geométrica do Título de anticorpos (GMT) †	CD4+, n/N	CD8+, n/N	sangue	urina	saliva						
rVSV-ZEBOV				0 (placebo)	ND	35	ND	ND	ND	ND	
NewLink Genetics e Merck, em colaboração com a Public Health Agency of Canada	I	Vírus da estomatite vesicular, com o gene da GP da espécie Zaire ebolavirus	N = 52	3 x 10 ⁶ PFU	++	1300	ND	0/10	0/10	0/10	[39]
				2 x 10 ⁷ PFU	++	4079	ND	0/10	0/10	1/10	
rVSV-ZEBOV				0 (placebo)	ND	35	ND	ND	ND	ND	
NewLink Genetics e Merck, em colaboração com a Public Health Agency of Canada	I	Vírus da estomatite vesicular, com o gene da GP da espécie Zaire ebolavirus	N = 158	1 x 10 ⁷ PFU	+	1064	ND	ND	ND	ND	
				5 x 10 ⁷ PFU	*artrite 11/51 (22%)	1780	ND	ND	ND	ND	
				3 x 10 ⁵ PFU	++	1056	ND	ND	ND	ND	[22]
				3 x 10 ⁶ PFU		1600	ND	ND	ND	ND	
				3 x 10 ⁶ PFU	++	1393	ND	ND	ND	ND	
				2 x 10 ⁷ PFU		1970	ND	ND	ND	ND	

† A média geométrica do título de anticorpos foi avaliada através de ensaios imunoenzimáticos (ELISA).

◊ A medição de vírus VSV no plasma, urina e saliva foi medida através de ensaios de RT-PCR (PCR com transcriptase reversa).

+: seguro, sem efeitos adversos apreciáveis. ND: não determinado.

NOTA: Os resultados não estão padronizados entre os vários ensaios, uma vez que os laboratórios utilizam métodos de determinação dos parâmetros imunológicos e instrumentos diferentes para avaliar as suas amostras. Desse modo, não é correta uma comparação entre os vários resultados.

7.3. Ad26-EBOV e MVA-EBOV (Johnson&Johnson e Bavarian Nordic)

A Johnson&Johnson, em associação com a empresa biotecnológica Bavarian Nordic, desenvolveu uma vacina que difere das restantes, por consistir num regime duplo de vacinação: a primeira dose (Ad26-EBOV) tem o intuito de fazer uma primeira estimulação do sistema imunitário e a segunda (MVA-EBOV) trata-se de um reforço, cujo objetivo é o de melhorar a resposta do sistema imunitário ao longo do tempo. A Ad26-EBOV contém adenovírus de serotipo 26 a expressar a glicoproteína do vírus *Zaire ebolavirus*, enquanto que a MVA-EBOV (Modified Vaccinia Ankara-EBOV) é uma vacina multivalente, uma vez que contém um vetor para expressar a glicoproteína do *Sudan ebolavirus* (SEBOV), do *Zaire ebolavirus*, do vírus Marburg e a nucleoproteína do *Tai Forest ebolavirus*.

No que diz respeito a estas vacinas, já existem resultados de fase I disponíveis. Os dados preliminares, publicados em maio de 2015, mostram que a formulação da vacina é imunogénica, independentemente até da ordem pela qual as vacinas são administradas. Em relação à segurança, ambas provocaram as reações expectáveis da vacinação. A resposta imunitária depois do reforço foi mista, tendo havido indução de componentes característicos da resposta celular e da resposta humoral. A resposta celular observada caracterizou-se pela indução de células T CD8+ e CD4+ altamente polifuncionais. Estas conclusões confirmam os resultados pré-clínicos reportados anteriormente e justificam a investigação deste regime duplo de vacinação em ensaios de fase II [43].

7.4. EBOV-GP (Novavax)

Por sua vez, a Novavax desenvolveu uma vacina que consiste numa nanopartícula com glicoproteína recombinante do *Zaire ebolavirus*. As nanopartículas esféricas têm entre 30 nm e 40 nm de diâmetro e contêm uma matriz adjuvante (Matrix-M™) à base de saponinas, que produz uma resposta imunitária mais forte e duradoura. Para obter o antígeno em grandes quantidades, que neste caso é a glicoproteína do vírus, é retirado do genoma viral o gene que a codifica e, posteriormente, incorporado no genoma de baculovírus. Células de inseto infetadas com esse baculovírus vão, conseqüentemente, expressar a proteína de interesse, que é integrada na nanopartícula. Este mecanismo permite uma produção em larga escala em relativamente pouco tempo [44]. A empresa divulgou, em julho de 2015, um relatório com resultados de fase I relativos à segurança e imunogenicidade da vacina com e sem a Matrix-M™, numa amostra de 230 adultos saudáveis. Aos participantes, foi-lhes administrada uma ou duas injeções intramusculares com doses a variar entre os 6.5 µg e os 50 µg de antígeno. Segundo o mesmo relatório, a vacina revelou ser altamente imunogénica com todas as doses,

atingindo títulos de anticorpos entre os 45.000 e 70.000 GMT passados 35 dias da vacinação [45].

Apesar das estratégias das vacinas apresentadas diferirem no processo de produção e terem as suas particularidades, a estratégia passa sempre por utilizar a glicoproteína como antígeno-alvo, o que à luz do conhecimento atual, acaba por ser a estratégia mais lógica, uma vez que a glicoproteína é a única proteína estrutural exposta à superfície das partículas virais passível de interagir com os anticorpos [20,21,46].

Uma resposta imunitária mais forte e duradoura é geralmente observada com vacinas vivas atenuadas. Uma das razões tem a ver com a capacidade de replicação do vírus vacinal no hospedeiro. Contudo, o risco de efeitos adversos é consideravelmente maior, o que levanta maiores preocupações no que diz respeito à segurança [42]. No entanto, a biologia molecular moderna veio tornar possível a inserção e eliminação de genes de interesse, usando uma grande variedade de sistemas e permitindo, assim, a utilização de vírus defetivos enquanto vetores, que são considerados mais seguros do que os vírus vivos atenuados de estirpes patogênicas e virulentas. Porém, uma desvantagem é a necessidade de utilização de doses consideravelmente maiores para atingir a mesma resposta imunitária. Outro inconveniente das vacinas desenvolvidas com vetores virais é a imunidade pré-existente aos próprios vetores: se uma porção considerável da população tem imunidade ao vetor, poderá haver um bloqueio no desenvolvimento de uma resposta imunitária eficaz contra a proteína de interesse cujo gene foi colocado nesse vetor. A vacina da GlaxoSmithKline, a ChAd3-ZEBOV, e a vacina VSV-ZEBOV são atualmente as mais promissoras e são também dois exemplos de vacinas formuladas com vetores virais, estando por isso sujeitas a enfrentar estes obstáculos [47].

A ChAd3-ZEBOV, por ser uma vacina que consiste num adenovírus sem os genes E1 e E4 (Figura 8), é incompetente no que diz respeito à replicação [36]. Por este motivo, uma grande dose de partículas será necessária para induzir uma resposta imunitária [20,47]. Por outro lado, a possibilidade de existência de imunidade contra o adenovírus também é uma realidade, uma vez que os adenovírus foram dos primeiros sistemas usados como vetores em humanos [47].

A VSV-ZEBOV, por ser uma vacina constituída por um vírus vivo e não atenuado, com elevada capacidade de replicação, exige maiores cuidados no que diz respeito à segurança. A aplicação em massa desta vacina poderá até introduzir um novo vírus na população humana,

produzido pelo próprio homem [20]. Em alguns estudos animais, o VSV revelou ter a capacidade de permanecer latente em alguns tecidos dos hospedeiros [47,48].

Os dados de segurança obtidos a partir dos estudos das vacinas aqui mencionadas e discutidas indicam um perfil de segurança aceitável em adultos saudáveis. No entanto, são necessários dados adicionais que esclareçam sobre a segurança das vacinas em grupos da população que ainda não foram contemplados nos estudos existentes: indivíduos imunodeficientes, crianças, grávidas e doentes crónicos. Em relação à eficácia, apesar de não serem passíveis de comparação, todas obtiveram resultados promissores, o que justifica a continuidade dos estudos.

Conclusão

A epidemia do vírus Ébola de 2014 demonstrou o que pode suceder quando um vírus contagioso surge entre uma população com um sistema de saúde precário, onde as práticas culturais (como por exemplo os funerais) e a falta de informação potenciam a disseminação da doença.

Apesar de ter sido identificado há mais de 40 anos, os investigadores não estão ainda completamente esclarecidos relativamente a aspetos essenciais do vírus, nomeadamente a transmissão, a patogénese, terapêutica específica e vacinas eficazes.

O vírus Ébola compromete toda a resposta imunitária inata e adaptativa ao expressar proteínas que inibem a produção de IFN do tipo I, ao desregular a resposta inflamatória, ao infetar as células apresentadoras de antigénio e através de todos os outros mecanismos descritos ao longo deste trabalho.

Nos últimos 15 anos, houve um progresso significativo no desenvolvimento da vacina contra o Ébola, apesar de ainda não existir nenhum tratamento profilático autorizado. A capacidade de indução de uma resposta imunitária, tanto humoral como celular, demonstrada por diversas vacinas experimentais comprova que a proteção contra um vírus tão letal quanto o Ébola passa pela vacinação e que esse seria o único método eficaz para prevenir uma epidemia como a observada em 2014 [20].

Para a OMS, o objetivo passa por obter uma vacina segura e eficaz até ao fim de 2015 [33]. Para já, várias vacinas completaram a fase I dos ensaios clínicos com resultados positivos e avançam agora para ensaios de fase II e III, com a expectativa de obter resultados mais detalhados, tanto sobre a segurança, como sobre a eficácia.

Até à data, é a vacina VSV-ZEBOV a mais avançada em estudos de fase clínica, tendo já, inclusivamente, apresentado resultados de fase III. Ainda que provisórios, estes resultados revelaram-se muito promissores no que à segurança e eficácia diz respeito. É expectável que as restantes vacinas em estudo apresentem resultados num futuro próximo.

O número de artigos e notícias que surgem diariamente, a nível mundial, sobre o vírus Ébola comprovam que a epidemia de 2014 não se tratou apenas de uma catástrofe para a África Ocidental. Com ela surgiram também oportunidades de colaboração entre os investigadores de todo o mundo, na tentativa de controlar a doença.

Referências bibliográficas

1. ZAWILINSKA, B., KOSZ-VNENCHAK, M., General introduction into the Ebola virus biology and disease. *Folia Med Cracov*, 2014. 54(3): p. 57-65.
2. MEYERS, L., *et al.*, Ebola virus outbreak 2014: clinical review for emergency physicians. *Ann Emerg Med*, 2015. 65(1): p. 101-8.
3. FELDMANN, H., Ebola — A Growing Threat? — *NEJM*. *N Engl J Med*, 2014. 371(15): p. 1375-8.
4. TORRES, M., HANSEN, K.N., JERRARD, D., Ebola: a review for emergency providers. *Emerg Med Clin North Am*, 2015. 33(2): p. e1-18.
5. PASSI, D., *et al.*, Ebola Virus Disease (The Killer Virus): Another Threat to Humans and Bioterrorism: Brief Review and Recent Updates. *J Clin Diagn Res*, 2015. 9(6): p. LE01-8.
6. LEROY, E.M., *et al.*, Fruit bats as reservoirs of Ebola virus. *Nature*, 2005. 438(7068): p. 575-6.
7. CHECK HAYDEN, E., The Ebola questions. *Nature News*, 2014. 514(7524): p. 554.
8. KANAPATHIPILLAI, R., Ebola Virus Disease — Current Knowledge — *NEJM*. *N Engl J Med*, 2015. 371(13): p. e18.
9. FELDMANN, H., GEISBERT, T.W., Ebola haemorrhagic fever. *Lancet*, 2011. 377(9768): p. 849-62.
10. LIU, W.B., *et al.*, Ebola virus disease: from epidemiology to prophylaxis, in *Mil Med Res*. 2015.
11. GALAS, A., The evolution of Ebola virus disease outbreaks. *Folia Med Cracov*, 2014. 54(3): p. 27-32.
12. BAIZE, S., *et al.*, Emergence of Zaire Ebola virus disease in Guinea. *N Engl J Med*, 2014. 371(15): p. 1418-25.
13. Ebola virus disease in West Africa—the first 9 months of the epidemic and forward projections. *N Engl J Med*, 2014. 371(16): p. 1481-95.
14. WHO. Ebola Situation Reports, Ebola, World Health Organization, 2015; [Acedido a 26 de agosto de 2015]. Disponível em: <http://apps.who.int/ebola/ebola-situation-reports>.
15. BBC. Ebola: Mapping the outbreak - BBC News. 2015; [Acedido a 17 de agosto de 2015]. Disponível em: <http://www.bbc.com/news/world-africa-28755033>
16. CDC. 2014 Ebola Outbreak in West Africa - Case Counts, Ebola Hemorrhagic Fever, CDC, 2015; [Acedido a 3 de agosto de 2015]. Disponível em: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/outbreaks/2014-west-africa/case-counts.html>.
17. WHO. Ebola Situation Report - 29 July 2015, Ebola, World Health Organization, 2015; [Acedido a 4 de agosto de 2015]. Disponível em: <http://apps.who.int/ebola/current-situation/ebola-situation-report-29-july-2015>.
18. CDC. 2014 Ebola Outbreak in West Africa - Reported Cases Graphs - Ebola Hemorrhagic Fever, CDC. 2015; [Acedido a 23 de agosto de 2015]. Disponível em: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/outbreaks/2014-west-africa/cumulative-cases-graphs.html>
19. KLENK, H.D., FELDMANN, H., Ebola and Marburg Viruses: Molecular and Cellular Biology. 2004: Horizon Bioscience.
20. YE, L., YANG, C., Development of vaccines for prevention of Ebola virus infection. *Microbes Infect*, 2015. 17(2): p. 98-108.
21. GOODSSELL, D., RCSB PDB-101 - Ebola Virus Proteins. 2015.
22. AGNANDJI, S.T., *et al.*, Phase I Trials of rVSV Ebola Vaccine in Africa and Europe - Preliminary Report. *N Engl J Med*, 2015.
23. ZHANG, L., WANG, H., Forty years of the war against Ebola. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2014. 15(9): p. 761-5.

24. Prime Health Channel, Ebola Virus – Symptoms, Pictures, Structure, facts and History, 2011; [Acedido a 23 de agosto de 2015]. Disponível em: <http://www.primehealthchannel.com/ebola-virus-symptoms-pictures-structure-facts-and-history.html>
25. MARCINKIEWICZ, J., BRYNIARSKI, K., NAZIMEK, K., Ebola haemorrhagic fever virus: pathogenesis, immune responses, potential prevention. *Folia Med Cracov*, 2014. 54(3): p. 39-48.
26. BRAY, M., CHERTOW, D.S., Epidemiology and pathogenesis of Ebola virus disease, 2015; [Acedido a 22 de agosto de 2015]. Disponível em: <http://www.uptodate.com/contents/epidemiology-and-pathogenesis-of-ebola-virus-disease>
27. BRAY, M., Pathogenesis of viral hemorrhagic fever. 2005. 17(4): p. 399–403.
28. FALASCA, L., *et al.*, Molecular mechanisms of Ebola virus pathogenesis: focus on cell death, in *Cell Death Differ*. 2015. p. 1250-9.
29. GUT, W., PANCER, K., Selected aspects of filoviruses in the view of Ebola virus disease epidemic. *Przegl Epidemiol*, 2015. 69(1): p. 15-21, 125-30.
30. CDC. Ebola virus disease Information for Clinicians in U.S. Healthcare Settings, Ebola Hemorrhagic Fever, CDC, 2015; [Acedido a 25 de agosto de 2015]. Disponível em: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/healthcare-us/preparing/clinicians.html#socialMediaShareContainer>
31. CHIAPPELLI, F., *et al.*, Ebola: translational science considerations. *Journal of Translational Medicine*, 2015. 13(1): p. 11.
32. CHAN, A.L., What Actually Happens When A Person Is Infected With The Ebola Virus. *The Huffington Post*, 2014.
33. WHO, Ebola vaccines, therapies, and diagnostics. WHO, 2015.
34. BISHOP, B.M., Potential and emerging treatment options for Ebola virus disease. *Ann Pharmacother*, 2015. 49(2): p. 196-206.
35. FALZARANO, D., GEISBERT, T.W., Feldmann, H., Progress in filovirus vaccine development: evaluating the potential for clinical use. *Expert Rev Vaccines*, 2011. 10(1): p. 63-77.
36. WHO, Safety of two candidate Ebola virus vaccines. WHO, 2015.
37. RAMPLING, T., *et al.*, A Monovalent Chimpanzee Adenovirus Ebola Vaccine - Preliminary Report. *N Engl J Med*, 2015.
38. LEDGERWOOD, J.E., *et al.*, Chimpanzee Adenovirus Vector Ebola Vaccine - Preliminary Report. *N Engl J Med*, 2014.
39. REGULES, J.A., *et al.*, A Recombinant Vesicular Stomatitis Virus Ebola Vaccine - Preliminary Report. *N Engl J Med*, 2015.
40. HENAO-RESTREPO, A.M., *et al.*, Efficacy and effectiveness of an rVSV-vectored vaccine expressing Ebola surface glycoprotein: interim results from the Guinea ring vaccination cluster-randomised trial. *The Lancet*, 2015. 386(9996): p.857-866
41. The Lancet. An Ebola vaccine: first results and promising opportunities. *The Lancet*, 2015. 386(9996): p. 830.
42. REZZA, G., A vaccine against Ebola: Problems and opportunities. *Hum Vaccin Immunother*, 2015. 11(5): p. 1258-60.
43. Bavarian Nordic Announces Presentation of Preliminary Phase I Results for the Ebola Prime-Boost Vaccine Regimen of MVA-BN(r) Filo and Janssen's AdVac(r) technology, 2015; [Acedido a 28 de agosto de 2015]. Disponível em: <http://www.bavarian-nordic.com/investor/news/news.aspx?news=4461>.
44. Novavax' Recombinant Protein Nanoparticle Vaccine Technology, Novavax, 2015; [Acedido a 28 de agosto de 2015]. Disponível em: <http://novavax.com/page/8/vaccine-technology>

45. Novavax Announces Positive Top-Line Data From Phase I Ebola Vaccine Trial on WHO Teleconference. Novavax, 2015; [Acedido a 28 de agosto de 2015]. Disponível em: http://ir.novavax.com/phoenix.zhtml?c=71178&p=irol-newsArticle_print&ID=2069476.
46. GEISBERT, T.W., JAHRLING, P.B., Towards a vaccine against Ebola virus. *Expert Rev Vaccines*, 2003. 2(6): p. 777-89.
47. REED, D.S., MOHAMADZADEH, M., Status and challenges of filovirus vaccines. *Vaccine*, 2007. 25(11): p. 1923-34.
48. LETCHWORTH, G.J., *et al.*, Vesicular stomatitis New Jersey virus RNA persists in cattle following convalescence. *Virology*, 1996. 219(2): p. 480-4.

Imagem da capa retirada de:

SEPPA, N., Year in review: Science faces Ebola epidemic. *Science News*, 2014. 186 (13): p. 14. [Acedido a 28 de agosto de 2015]. Disponível em: <https://www.sciencenews.org/article/year-review-science-faces-ebola-epidemic>