



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**DOENÇA CAUSADA PELO VÍRUS ÉBOLA: EPIDEMIOLOGIA,
PATOGENESE, TRATAMENTO E PREVENÇÃO**

Trabalho submetido por
Eva Solange Cordeiro Nunes
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Novembro de 2016



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**DOENÇA CAUSADA PELO VÍRUS ÉBOLA: EPIDEMIOLOGIA,
PATOGENESE, TRATAMENTO E PREVENÇÃO**

Trabalho submetido por
Eva Solange Cordeiro Nunes
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Prof. Doutor Nuno Eduardo Moura dos Santos da Costa Taveira

Novembro de 2016

Dedicatória

Para a minha mãe guerreira,

Para os meus irmãos,

E para todos os restantes que sempre acreditaram em mim

Agradecimentos

Em primeiro lugar, queria agradecer à minha mãe, por ter estado sempre presente ao longo da minha vida, incluindo a vida académica, por ter sido e continuar a ser o meu grande apoio, por me ter dado força e motivação sempre que eu precisei.

Queria também agradecer aos meus amigos, irmãos e restante família que sempre me ajudaram e deram coragem para continuar.

Queria deixar o meu muito obrigado a todos eles por nunca terem deixado de acreditar em mim.

Po fim, queria ainda deixar os meus votos de agradecimento ao meu orientador, prof. Doutor Nuno Taveira pelo seu contributo nesta dissertação, bem como pela sua enorme dedicação e disponibilidade sempre demonstrada para comigo. Não posso deixar de expressar o meu orgulho em tê-lo tido como meu orientador pela sua competência, experiência e profissionalismo. Muito obrigada, foi um privilégio para mim.

Resumo

A doença por vírus Ébola é uma doença infecciosa, na sua maioria fatal, e que é provocada por quase todas as estirpes do vírus Ébola. Os primatas não humanos e o Homem são os alvos que mais têm sido afetados por este vírus, sendo que a transmissão pode ser realizada através de várias vias, nomeadamente de pessoa para pessoa.

Ao longo da história do vírus, que remonta de há cerca de 40 anos, foram vários os surtos ocorridos, tendo sido mais prevalentes no continente africano.

Apesar de ter surgido em 1976, foi no ano de 2014 que este vírus passou a constituir uma preocupação a nível mundial, pela sua disseminação mais abrangente e consequente subida drástica nos números de mortalidade até então registados.

Os números de casos e mortes reportados são já os maiores da família deste vírus, infelizmente muito devido à falta de informação acerca do mesmo, nomeadamente a sua forma de contágio.

Desde 2014, os investigadores não têm poupado esforços para descobrir todos os aspetos relacionados com o vírus mas, apesar disso, não existe até ao momento nenhuma vacina nem tratamento aprovado para combater a doença.

O objetivo desta monografia foi realizar uma revisão bibliográfica acerca do vírus Ébola e da doença que ele provoca, bem como dos métodos de diagnóstico, tratamento e vacinas.

Para a realização desta pesquisa bibliográfica recorreu-se às bases de dados online *PubMed Medline*, *Up To Date* e *B-on*, bem como aos sites da World Health Organization e do Centers for Disease Control and Prevention, sendo que se restringiu a pesquisa entre 2011 e 2016. As palavras-chave utilizadas foram “ebola virus”, “ebola virus disease”, “ebola vaccine”, “ebola outbreak”, “ebola treatment”, “ebola transmission”, “ebola pathogenesis”, entre outras.

Palavras-chave: vírus Ébola; epidemiologia; patogénese; tratamento e prevenção

Abstract

The Ebola virus disease is an infectious disease, mostly fatal, and which is caused by nearly all strains of the Ebola virus. Non-human primates and humans are the targets that have been more affected by this virus, and the transmission can be performed by various routes, namely from person to person.

Throughout the history of the virus, which dates back some 40 years, occurred several outbreaks, which were more prevalent in Africa.

Although it originated in 1976, it was in the year 2014 that this virus became a worldwide concern for its wider dissemination and consequent drastic rise in mortality figures so far recorded.

The numbers of cases and deaths reported are already the largest of this virus family, unfortunately much due to lack of information about the same, including its form of contagion.

Since 2014, researchers have spared no effort to discover all the aspects related to the virus but, nevertheless, there is so far no vaccine or treatment approved to fight the disease.

The objective of this monograph was to realize a bibliographical review about the Ebola virus and the disease it causes, as well as the diagnosis methods, treatment and vaccines.

In order to carry out this bibliographical research I resorted to *PubMed Medline*, *Up To Date* and *B-on* online databases, as well as to the websites of the World Health Organization and of the Centers for Disease Control and Prevention sites, being that the research was restricted between 2011 and 2016. The keywords used were “ebola virus”, “ebola virus disease”, “ebola vaccine”, “ebola outbreak”, “ebola treatment”, “ebola transmission”, “ebola pathogenesis”, among others.

Key-words: Ebola virus; epidemiology; pathogenesis; treatment and prevention

Índice Geral

Índice de Figuras.....	7
Índice de Tabelas.....	9
Lista de Acrónimos.....	11
Glossário.....	13
1. Introdução.....	15
2. Estrutura do vírus Ébola.....	18
2.1. Ciclo replicativo do vírus.....	22
3. Epidemiologia.....	31
4. Transmissão.....	37
4.1. Origem (Reservatórios naturais).....	39
4.2. Fatores de risco.....	40
5. Patogénese.....	42
5.1. Invasão e disseminação do vírus no organismo hospedeiro.....	42
5.2. Resposta do sistema imunitário.....	45
6. Manifestações clínicas.....	49
6.1. Dados laboratoriais.....	54
6.2. Período de convalescência.....	55
7. Diagnóstico e métodos de deteção do vírus.....	57
7.1. Desinfecção.....	62
8. Tratamento.....	64

9. Prevenção.....	68
9.1. Vacinas.....	72
10. Conclusão.....	75
11. Bibliografia.....	76

Índice de Figuras

Figura 1- Fotografia de um vírus Ébola visualizado por microscopia electrónica de transmissão.....	15
Figura 2A- Representação simplificada da estrutura do genoma do vírus Ébola.....	18
Figura 2B- Representação da estrutura interna do vírus Ébola.....	19
Figura 2C- Ilustração da estrutura da partícula do vírus Ébola e respetivos constituintes principais.....	19
Figura 3- Representação das 2 subunidades da GP do vírus, com as respetivas regiões.....	21
Figura 4- Entrada do vírus Ébola na célula hospedeira.....	24
Figura 5- Papel da NPC1 e da TIM-1 na entrada do virião.....	27
Figura 6- Ciclo de replicação do vírus Ébola.....	29
Figura 7- Representação geográfica do número de casos da EVD em África, de acordo com a espécie e respetivo local de ocorrência, até 2014.....	32
Figura 8- Ciclo transmissivo do vírus Ébola.....	37
Figura 9- Avaliação do risco dos profissionais de saúde contraírem a doença em detrimento do tipo de exposição a que estiveram sujeitos.....	41
Figura 10- Invasão e disseminação do vírus Ébola.....	48
Figura 11- Sintomas precoces e tardios geralmente apresentados por pessoas infetadas com o vírus Ébola	50
Figura 12- Procedimento de avaliação clínica de um paciente.....	57
Figura 13- Representação de uma unidade especial de isolamento de doenças com elevada probabilidade de transmissão.....	70

Índice de Tabelas

Tabela 1- Surtos provocados pelo vírus Ébola Reston.....	33
Tabela 2- Registo pormenorizado dos surtos ocorridos em África entre 1976 e 2012/2013.....	34
Tabela 3- Registo do número de casos e mortes confirmadas nos principais locais afetados pelo surto do vírus Ébola de 2014.....	35
Tabela 4- Métodos de deteção usados de acordo com o tempo de infeção.....	59
Tabela 5- Descrição do PPE contra o vírus Ébola.....	71

Lista de Acrónimos

ChAd3- Chimp Adenovirus type 3

EVD- Ébola virus disease

EBOV- *Ebolavirus*

ELISA- Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

GP- Glicoproteína viral

HR- Heptad repeat

NP- Nucleoprotein

NPC1- Cholesterol transporter Niemann-Pick C1

PPE- Personal protective equipment

RBD- Receptor binding domain

RNP- Ribonucleoprotein complex

RNA- Ribonucleic acid

RT-PCR- reverse transcription polimerase chain reaction

sGP- Secretory glycoprotein

SsGP- Small soluble glycoprotein

TAM- Family of Tyrosine Kinase Receptors

TIM-1- human T cell Ig mucin 1

VLPs- Virus like particles

VP- Viral protein

VSV- Vesicular stomatitis virus

ZEBOV- Zaire ebolavirus

Glossário

Virião- Partícula infecciosa de um vírus

Diátese hemorrágica: Hemorragias devido a defeitos da coagulação, das plaquetas e vasos sanguíneos

Prostração: Abatimento quer a nível físico, quer a nível psicológico, acompanhado por um estado de total apatia e ausência de ação

Necrópsia: Procedimentos a efetuar a um cadáver para conhecer a causa da morte

Virémia: Quantidade de vírus presente no sangue

TAM- Família de receptores de múltiplos ligandos (ex. hormonas e factores de crescimento) com actividade de cinase da tirosina

1. Introdução

Nos finais do século XX foi descoberto um novo vírus, o vírus Ébola (EBOV) no continente africano, mais precisamente no Sudão e República Democrática do Congo. (Ohimain, 2015) O vírus Ébola (figura 1) representa um dos vírus mais perigosos e mortais que existe a nível mundial, podendo afetar humanos e determinados animais, como por exemplo os primatas. (Miao, Li, Zheng, Cohen & Liu, 2015)

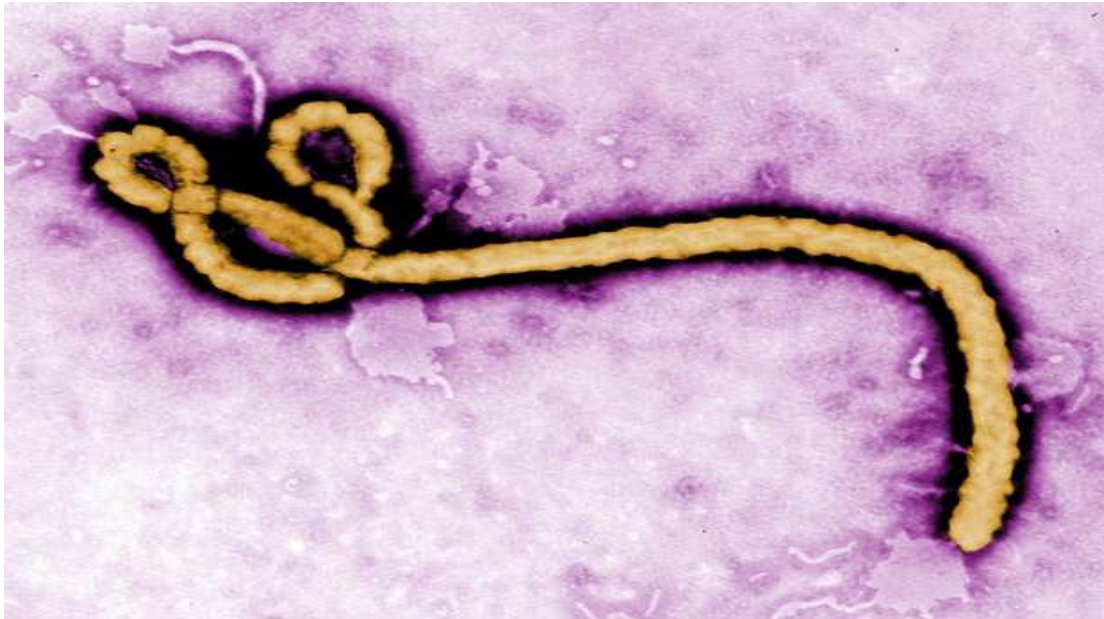


Figura 1- Fotografia de um vírus Ébola visualizado por microscopia electrónica de transmissão. Esta imagem foi conseguida em 1976 pelo Doutor Frederic Murphy através da observação da amostra de um paciente. (Retirado de (Centers for Disease Control and Prevention, 2014a))

Este vírus é o responsável pela doença por vírus Ébola (EVD), que se caracteriza principalmente por febre hemorrágica, com possíveis coagulopatias e choque séptico e cuja taxa de mortalidade varia entre os 25% e os 90%, dependendo da espécie em causa. (Meyers, Frawley, Goss & Kang, 2015)

Desde a altura em que o vírus foi encontrado, foram registados vários surtos da doença, sendo estes na sua grande maioria restritos a regiões rurais no centro e oriente de África. (Ohimain, 2015) Contudo, sem que nada o fizesse prever, ocorreu em 2013 um novo caso na Guiné (Onwuakor, 2014), e a partir do surto aí gerado, o vírus começou a espalhar-se numa escala sem precedentes, abrangendo populações fora do local de origem do surto, como aconteceu por exemplo na Libéria e Serra Leoa,

constituindo deste modo uma preocupação crescente e um problema a nível global (Centers for Disease Control and Prevention, 2016a), uma vez que começaram a surgir casos importados na Europa, Estados Unidos e Reino Unido. (CDC, 2016b)

O EBOV e o vírus Marburg, são membros da ordem Mononegavirales e da família *Filoviridae* (Berrueta, 2015), e causam febres hemorrágicas. (Weyer, Grobbelaar & Blumberg, 2015) Ainda pertencente a esta família é o género *Cuevavirus* (Internacional Committee on Taxonomy of Viruses, 2016), que foi descoberto recentemente em 2002; as informações acerca deste vírus ainda são escassas. (Maruyama et al., 2013)

O género *Ebolavirus* tem cinco espécies, cujos nomes foram atribuídos de acordo com o local onde foram originalmente encontrados: o *Ebolavirus Zaire* (ZEBOV), atualmente designado vírus Ébola, o *Ebolavirus Sudão*, o *Ebolavirus Tai Forest* (antes denominado Costa do Marfim), o *Ebolavirus Reston* e, por fim, o *Ebolavirus Bundibugyo*. (ICTV, 2016; Hill-Batorski, Halfmann, Neumann & Kawaoka, 2013)

A sua capacidade de produzir doença e desta ser ou não fatal varia não só em função da espécie mas também em função do hospedeiro afetado (humanos ou animais). (Weyer et al., 2015)

Os vírus mais patogénicos em humanos são o Ébola Zaire, com taxas de mortalidade que podem chegar aos 90%, e o Ébola Sudão, com taxas de mortalidade a rondar os 50%. (Martines, Ng, Greer, Rollin & Zaki, 2015; Hill-Batorski et al., 2013) Já o Ébola Bundibugyo apresenta uma taxa de mortalidade de 25% a 30%. (Weyer et al., 2015) As infeções provocadas pelo vírus Reston parecem ser assintomáticas em humanos, ao contrário do que ocorre nos primatas não humanos e porcos. (Martines et al., 2015) No caso do vírus Tai Forest, pensa-se que tenha infetado apenas uma pessoa, mas apesar de parecer não ser mortal em humanos revelou ser mortífero em chimpanzés. (Weyer et al., 2015)

A elevada prevalência da doença por vírus Ébola nos últimos anos e a sua elevada taxa de mortalidade fez com que se tornasse um importante problema de saúde pública a nível global.

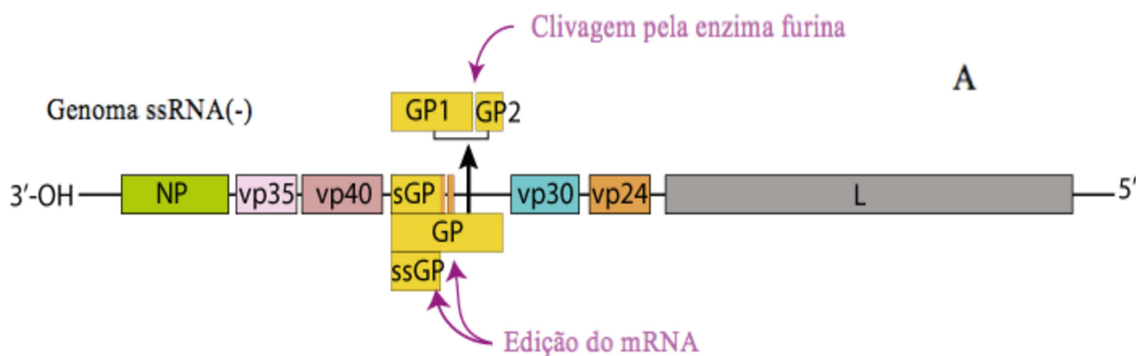
O objetivo desta dissertação foi rever e atualizar todas as informações relativas ao vírus bem como à sua transmissão, epidemiologia, manifestações clínicas, métodos de diagnósticos, tratamentos e medidas de prevenção. Para este efeito foram consultadas as bases de dados online *PubMed Medline*, *Up To Date* e *B-on*, sendo que restringi essa pesquisa entre 2011 e 2016. Foram também consultados os sites da Organização Mundial de Saúde (OMS), do Centers for Disease Control and Prevention (CDC) dos Estados Unidos, do National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) e da Direção-Geral de Saúde (DGS), Portugal. As palavras-chave utilizadas foram “ebola virus”, “ebola virus disease”, “ebola vaccine”, “ebola outbreak”, “ebola treatment”, “ebola transmission”, “ebola pathogenesis”, “ebola review”, entre outras.

2. Estrutura do vírus Ébola

Os filovírus são partículas virais pleiomórficas, ou seja, podem apresentar-se em diferentes formas, desde uma estrutura fina e alongada, até filamentos ramificados, ou filamentos mais curtos, podendo adotar formas em “U”, em “6” ou até mesmo em círculo (Figura 1). (CDC, 2014b)

O vírus Ébola possui um diâmetro uniforme, de cerca de 80 nm aproximadamente, e tem um comprimento máximo de 970 nm. (Galán-Huerta, Soto, Estilla, Cruz & Jiménez, 2014) Este vírus caracteriza-se por ter envelope lipídico (Adu-Gyamfi et al., 2014), e por ter um genoma com cerca de 19 000 pares de bases, que é composto por ácido ribonucleico (RNA) de cadeia simples, não segmentado e de polaridade negativa (ssRNA(-)). (Martines et al., 2015)

O genoma codifica para sete proteínas que são, da extremidade 3' para a 5' do genoma, a nucleoproteína (NP), duas proteínas virais (VP) VP35 e VP40, a glicoproteína de superfície do invólucro (GP), as VP30 e VP24, e a RNA polimerase RNA dependente (L), sendo todas as VPs consideradas proteínas estruturais (Figura 2A). (Olival & Hayman, 2014; Menéndez, Simón & Barberán, 2014; Ohimain, 2015) Apesar do invólucro do vírus ser estrutural, sabe-se que o gene da GP codifica para duas formas da glicoproteína viral que são solúveis e não são estruturais (Hunt, Lennemann & Maury, 2012), e são elas a glicoproteína secretória (sGP), que é expressa através da edição do RNA, e uma glicoproteína secretada solúvel mais pequena (ssGP), produto também resultante da edição transcricional do gene da GP. (Mehedi et al., 2011; Choi & Croyle, 2013; Olival & Hayman, 2014) (Figura 2A)



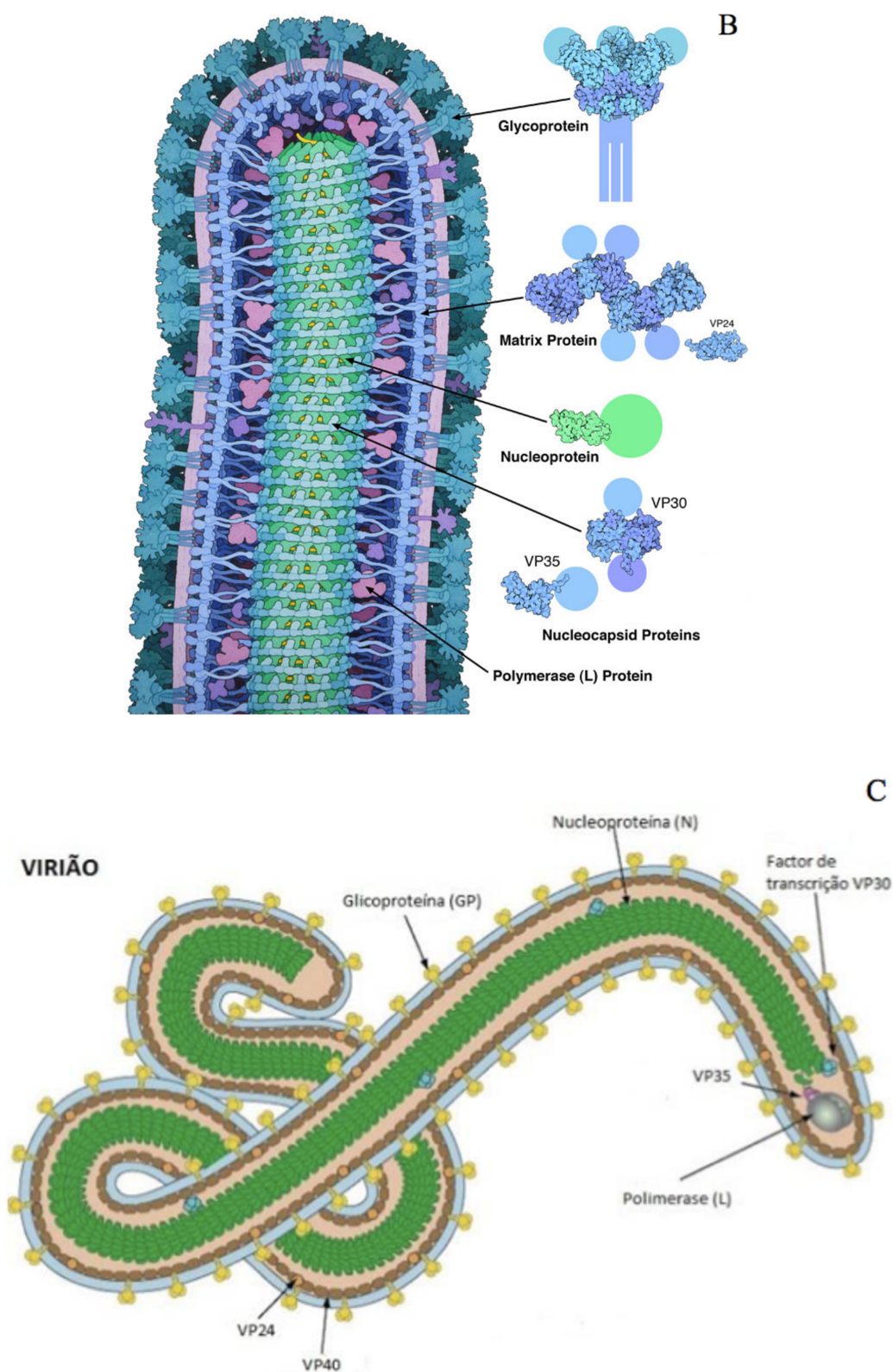


Figura 2- A. Representação simplificada da estrutura do genoma do vírus Ébola. São indicadas as posições relativas das 7 proteínas expressas pelo genoma, da extremidade 3' para 5'. É também possível a visualização das duas subunidades da GP, que são originadas através da clivagem da glicoproteína do vírus pela enzima furina. Nesta figura estão ainda presentes o sGP, que é um produto resultante da

transcrição do gene da GP, bem como o ssGP, que é também produto do gene da GP. A pré-sGP, que é uma proteína precursora, ao sofrer o processo de proteólise (provocado por uma furina), vai produzir a sGP. (Adaptado de (ExpASy, 2015)) **B.** Representação da estrutura interna do vírus Ébola. Nesta figura é possível ver com mais pormenor a disposição e morfologia dos componentes do virião. (Adaptado de (Goodsell D., 2014)) **C.** Ilustração da estrutura da partícula do vírus Ébola e respetivos constituintes principais. Esta imagem descreve visualmente, de uma forma simplificada, os componentes essenciais que existem na partícula viral do Ébola. (Adaptado de (ExpASy, 2014a))

Em termos estruturais, o vírus é composto por 3 proteínas: o invólucro viral, a matriz e a nucleocápside. (Passi, Sharma, Dutta, Dudeja & Sharma, 2015)

O invólucro é proveniente da membrana citoplasmática das células infetadas dos seus hospedeiros, aquando da saída do vírus por gemulação. (Passi et al., 2015) Este invólucro é a membrana externa lipídica que envolve a partícula viral, mais precisamente a sua nucleocápside (Figura 2B). (Dziubanska, Derewenda, Ellena, Engel & Derewenda, 2014) A nucleocápside helicoidal está localizada no centro do virião e para além de ser constituída pela nucleoproteína NP que envolve o genoma ssRNA(-), tem também na sua composição a RNA polimerase e as proteínas virais VP35 e VP30. (Passi et al., 2015) Este complexo composto pela enzima RNA polimerase e pelas proteínas VP30 e VP35 é o designado complexo ribonucleoproteico (RNP) (Figura 2B). (Ohimain, 2015)

A NP é a proteína mais abundante da nucleocápside e das células infetadas por este vírus. (Dziubanska et al., 2014) A região C-terminal da NP é diferente das restantes proteínas que se conhecem, entre os resíduos 641 e 739. (Dziubanska et al., 2014) Esta região poderá ser relevante no que toca às interações proteína-proteína ao nível da nucleocápside e poderá ser um determinante antigénico importante, podendo eventualmente ser usado para detetar e diagnosticar o vírus Ébola com eficácia. (Dziubanska et al., 2014)

A matriz é uma estrutura que dá estabilidade à partícula viral e encontra-se posicionada entre o invólucro e a nucleocápside. (Passi et al., 2015) A matriz é constituída pela proteína VP40, que apresenta dois domínios diferentes, o N-terminal (NTD) e o C-terminal (CTD) (Figura 2B e 2C). (Adu-Gyamfi et al., 2014) Para além da sua proteína principal VP40, a matriz é ainda constituída pela VP24, sendo esta proteína

da matriz considerada uma proteína secundária, uma vez que se encontra presente em pequenas quantidades no vírus. (Ohimain, 2015; Srivastava, Jain, Dubey, Bhatnagar & Ahmad, 2015)

O invólucro viral é constituído pelas glicoproteínas GP1 e GP2 (ligadas de modo covalente por pontes dissulfeto), que resultam da clivagem de uma poliproteína GP que ocorre no aparelho de Golgi através da enzima furina. (Hunt et al., 2012) O invólucro nas partículas virais maduras tem uma estrutura trimérica (Figura 2B e 2C). A GP1 é uma proteína extracelular, ao passo que a GP2 é uma proteína transmembranar que se encontra ancorada à membrana. (Ohimain, 2015) A GP1 na sua conformação trimérica está envolvida na ligação ao receptor celular, enquanto a GP2 é responsável pela fusão vírus-célula indispensável à entrada do vírus na célula alvo. (Miao et al., 2015; Ohimain, 2015)

A GP1 é constituída pelo péptido sinal (SP), pelo domínio de ligação ao recetor (RBD), e por mais 2 domínios que são bastante glicosilados, a *glycan cap* [com oligossacáridos ligados nas asparaginas (N) nos motivos NXT/S], (Hofmann-Winkler, Kaup & Pöhlmann, 2012) que na estrutura nativa protege o RBD, e o domínio tipo mucina (mucin-like domain, MLD) (com oligossacáridos ligados em asparaginas e em O, ou seja, em moléculas de oxigénio existentes nos aminoácidos) (Figura 3). (Lennemann et al., 2014) Todos este domínios, com exceção do MLD, são importantes na expressão e função da GP antes do processo de fusão e na estrutura nativa trimérica da proteína encontram-se localizados no centro. (Lennemann et al., 2014) Por sua vez, a GP2, possui um loop de fusão (IFL) na sua extremidade amina a que se seguem as regiões heptad repeat (HR) 1 e HR 2 (que são glicosilados em N), bem como um domínio transmembranar (TM). (Lennemann, Walkner, Berkebile, Patel & Maury, 2015) (Figura 3)

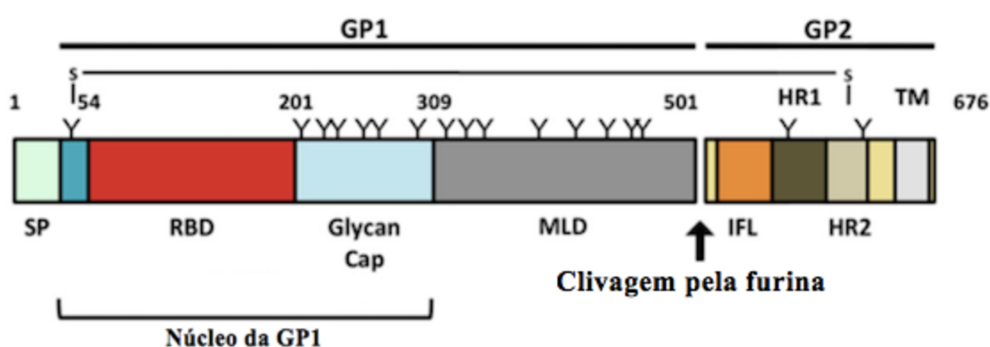


Figura 3- Representação das 2 subunidades da GP do vírus, com as respetivas regiões. Na GP1 encontra-

se o RBD, bem como o domínio glycan cap e mucin-like. Na GP2 encontra-se o fusion loop, HR 1 e 2 e o domínio TM. Nesta figura encontra-se ainda representado o local de clivagem da GP utilizado pela enzima furina, bem como podem ser observados os locais de glicosilação em N (Y). (Adaptado de (Lennemann et al., 2014))

2.1. Ciclo replicativo do vírus

O ciclo de vida do vírus Ébola começa com a sua ligação à membrana das célula alvo através da GP1, com a ajuda de diversos fatores celulares que são expressos na superfície das células hospedeiras. (Passi et al., 2015) Entre estes fatores celulares encontram-se o domínio imunoglobulina e mucina das células T, que é o recetor celular viral (TIM-1), e proteínas como as lectinas (DC-SIGN, DC-SIGNR, LSECtin, ASPGR-1 e hMGL), que são fatores de fixação e que contribuem para a entrada do vírus Ébola. (Dahlmann et al., 2015; Hoffmann, Hernández, Berger, Marzi & Pöhlmann, 2016) Para além disso, existem ainda outras proteínas de superfície, como a integrina $\alpha 5\beta 1$ e a família de recetores tirosina cinases (TAM), que são fatores de sinalização, bem como existem ainda fatores presentes nos endossomas e lisossomas das células hospedeiras, que são as catepsinas B e L, que são proteases de cisteína, e a proteína transportadora de colesterol Niemann-Pick C1 (NPC1), que é considerado um recetor de fusão. (Hofmann-Winkler et al., 2012; Kuroda et al., 2015; Hoffmann et al., 2016)

A GP1 é a estrutura fulcral do virião para que possa ocorrer a ligação do vírus à membrana das células hospedeiras, como por exemplo, nos macrófagos, monócitos, células dendríticas, células epiteliais e endoteliais, onde são expressos os fatores e recetores celulares apropriados. (Passi et al., 2015; Galán-Huerta et al., 2014) A GP1, que se encontra na superfície do invólucro liga-se inicialmente aos fatores de fixação das células hospedeiras que facilitam a sua entrada, como as lectinas e a TIM-1 (Figura 4). (Kuroda et al., 2015) Os fatores de fixação existem na membrana citoplasmática das células alvo do vírus e, como o próprio nome indica, possibilitam a ligação do vírus à superfície das células, através de interações inespecíficas estabelecidas com a GP1 do virião. (Hofmann-Winkler et al., 2012)

Sabe-se que a presença de lectinas nas células, nomeadamente a L-SIGN, DC-SIGN e hMGL promove um aumento da entrada do vírus (Hunt et al., 2012), uma vez

que a elas se ligam os açúcares que se encontram nas subunidade 1 da glicoproteína. (Dahlmann et al., 2015) É ainda de salientar que a expressão das lectinas hMGL e DC-SIGN foi detetada nos macrófagos e células dendríticas, bem como a ASGPR-1 nas células hepáticas e as LSECtin e DC-SIGNR foram encontradas nas células endoteliais do fígado e nódulos linfáticos, sendo que todas estas células são alvo do vírus Ébola. (Hofmann-Winkler et al., 2012)

A entrada do vírus nas células parece também depender do recetor TIM-1 (Figura 4). (Dahlmann et al., 2015; Hoffmann et al., 2016) Este recetor está presente nas células epiteliais mucosas da conjuntiva, que constituiu uma porta de entrada do vírus Ébola, bem como noutras células epiteliais. (Hofmann-Winkler et al., 2012) Geralmente, a TIM-1 é também encontrada expressa em células nomeadamente do fígado, rim e linfócitos T ativados, que são alvos do vírus Ébola. (Hofmann-Winkler et al., 2012)

Apesar de ter sido já demonstrado que este recetor estabelece ligações com a GP1, pensa-se que são as interações diretas estabelecidas entre o TIM-1 e a fosfatidilserina (PtdSer) que constituem uma ajuda importante na entrada do vírus no hospedeiro. (Dahlmann et al., 2015; Kuroda et al., 2015) Estas interações ocorrem na superfície do invólucro do virião, uma vez que a fosfatidilserina se encontra presente na sua membrana e fica exposta na superfície quando as células sofrem apoptose, sendo que a TIM-1 participa na clearance destas células. (Hofmann-Winkler et al., 2012; Dahlmann et al., 2015) É graças a estas interações que é desencadeada a transdução de um sinal nas células, que vai posteriormente induzir o processo de macropinocitose. (Hofmann-Winkler et al., 2012; Lennemann et al., 2014)

Enquanto a subunidade GP1 está encarregue da interação com os recetores e fatores celulares (Lennemann et al., 2014), através do domínio RBD (Hofmann-Winkler et al., 2012), a subunidade GP2 participa no processo de fusão do invólucro do vírus com a membrana da célula hospedeira (Miao et al., 2015), sendo este processo mediado através da produção de uma estrutura constituída por 6 hélices alfa, que resulta da junção das regiões HR1 e HR2. (Lennemann et al., 2015) Esta estrutura termoestável aproxima a membrana do vírus e das células alvo, favorecendo deste modo o processo de fusão entre o vírus e a membrana do endossoma tardio, o que permite a descapsidação, ou seja, a libertação da cápside no citoplasma (Figura 4). (Hofmann-

Winkler et al., 2012)

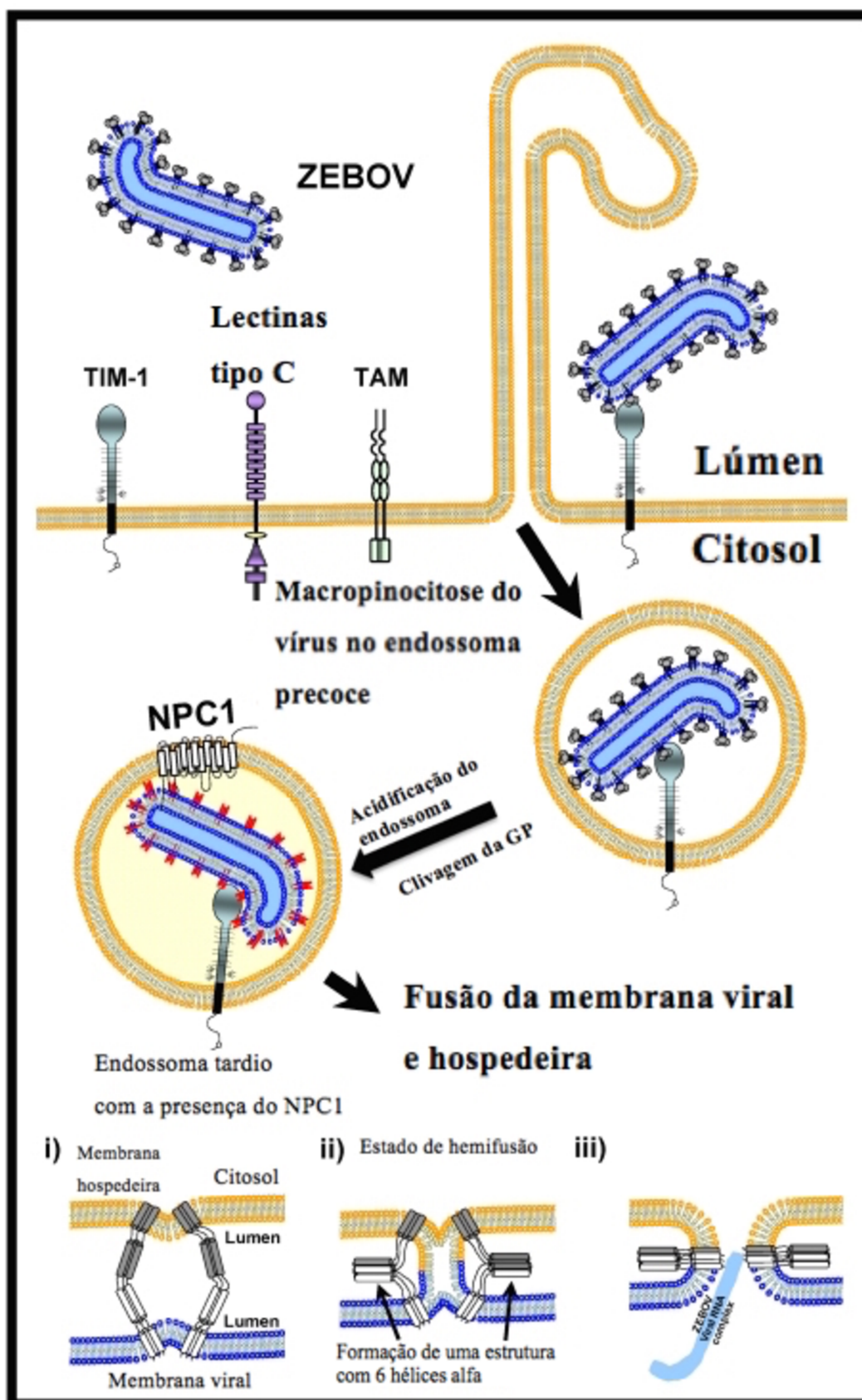


Figura 4- Entrada do vírus Ébola na célula hospedeira. Esta figura mostra a ligação e entrada do vírus Ébola na membrana hospedeira, com a contribuição dos fatores aí presentes. A partícula viral é captada

para dentro dos endossomas precoces através do mecanismo de macropinocitose, sendo que posteriormente a GP sofre o processo de clivagem nos endossomas tardios. De seguida é realizado o processo de fusão da membrana do vírus e da célula hospedeira, o qual tem a ajuda da NPC1. (Adaptado de (Hunt et al., 2012))

Em relação aos fatores de sinalização das células hospedeiras, estes servem essencialmente para ativar as cascatas de sinalização celular, levando deste modo à internalização do vírus no hospedeiro através do processo de macropinocitose. (Hofmann-Winkler et al., 2012)

Através do processo de macropinocitose, na qual a família TIM-1 e TAM participam, as partículas virais entram nas células, para endossomas precoces, onde são depois transportadas para o interior dos endossomas tardios (Figura 4). (Hunt et al., 2012; Dahlmann et al., 2015; Bornholdt et al., 2016)

Com respeito às proteínas da família TAM, particularmente Tyro 3, Axl e Mer, estão envolvidas na libertação de citocinas, adesão, sobrevivência e proliferação celular. (Hofmann-Winkler et al., 2012) A macropinocitose é o mecanismo maioritariamente utilizado pelos filovírus no processo de entrada nas células e depende de sinais celulares emitidos por elementos da família de recetores de tirosina cinase da família TAM. (Hofmann-Winkler et al., 2012; Dahlmann et al., 2015) Pensa-se que não sejam estabelecidas ligações entre a GP1 e qualquer outro recetor desta família, cingindo-se apenas à emissão de sinais. (Dahlmann et al., 2015)

Após a captação das partículas do vírus, e já dentro dos endossomas tardios, é então necessário que as proteases de cisteína procedam à clivagem da GP1, para que o processo de fusão possa ocorrer. (Miao et al., 2015) É nesta etapa que envolve as proteases, que participam as integrinas, consideradas fatores de sinalização. (Hofmann-Winkler et al., 2012) As integrinas são proteínas de adesão que promovem a entrada do vírus mas de uma forma mais indireta, isto porque, a integrina $\alpha 5\beta 1$ regula a expressão das formas de cadeia dupla das catepsinas B e L, sem as quais não seria possível exercerem a sua atividade no processo de clivagem da glicoproteína do invólucro viral, o qual é necessário para a posterior fusão da membrana viral e da célula hospedeira. (Hofmann-Winkler et al., 2012)

No entanto, esta fusão só é possível se se verificar um pH ácido dentro dos endossomas (Markosyan et al., 2016), pois é graças à acidificação endossomal que as catepsinas vão ficar ativadas (Figura 4). (Marzi, Reinheckel & Feldmann, 2012)

A glicoproteína do vírus necessita então de um processamento proteolítico para ficar apta ao processo de fusão da membrana, pelo que a clivagem é realizada por parte das catepsinas lisossomais B e L, sendo que durante este processo de clivagem foi demonstrado que o local de ligação ao receptor da GP1 fica exposto. (Hofmann-Winkler et al., 2012)

As catepsinas L e B removem a *glycan cap* e o domínio *mucin-like* da subunidade GP1 (Herbert et al., 2015), que são regiões muito glicosiladas, sendo assim capazes de dar à NPC1 acesso ao local de ligação ao recetor. (Linden et al., 2016) Enquanto a GP1 sofre o processo de clivagem, esta permanece ligada à subunidade GP2 e só depois de acabado esse processo, é que se liga então à proteína NPC1. (Markosyan et al., 2016) Graças a esta exposição da RBD, a NPC1 consegue ligar-se à GP1, sendo estas interações necessárias para ativar o processo de fusão do vírus nas células hospedeiras, o qual é mediado pela GP2. (Adu-Gyamfi et al., 2014; Dahlmann et al., 2015; Linden et al., 2016)

Relativamente a esta proteína transmembranar NPC1, sabe-se que se encontra situada nas membranas dos lisossomas e endossomas e que está presente em todos os tecidos do Homem, mas principalmente no fígado, onde atinge a sua maior expressão. (Hofmann-Winkler et al., 2012; Herbert et al., 2015) A expressão desta proteína auxilia bastante na entrada do vírus em células alvo como os macrófagos e na sua posterior infeção, que são um dos principais alvos do vírus Ébola, bem como contribui de uma forma extremamente importante no processo de fusão da membrana do virião, através das ligações estabelecidas com a GP1, sendo esta proteína considerada um receptor essencial na entrada no vírus Ébola. (Hofmann-Winkler et al., 2012; Dahlmann et al., 2015)

A NPC1 é de tal modo importante que foi verificada resistência à infeção provocada pelo vírus nos casos em que esta não estava presente nas células ou nos casos em que não lhe foi permitida exercer a sua função devidamente. (Lai, Ng & Cheng, 2014)

Não obstante, pensa-se que também a TIM-1 seja necessária à fusão da membrana viral com a membrana endossomal da célula hospedeira, uma vez que foi detetada a sua presença nos endossomas, onde ocorrem interações entre a TIM-1 e a proteína NPC1, depois da entrada das partículas virais nas células (Figura 4 e 5). (Kuroda et al., 2015)

A figura 5 ilustra de uma maneira mais elucidativa de que forma a NPC1, juntamente com a TIM-1 participam neste processo de entrada do vírus Ébola nas células.

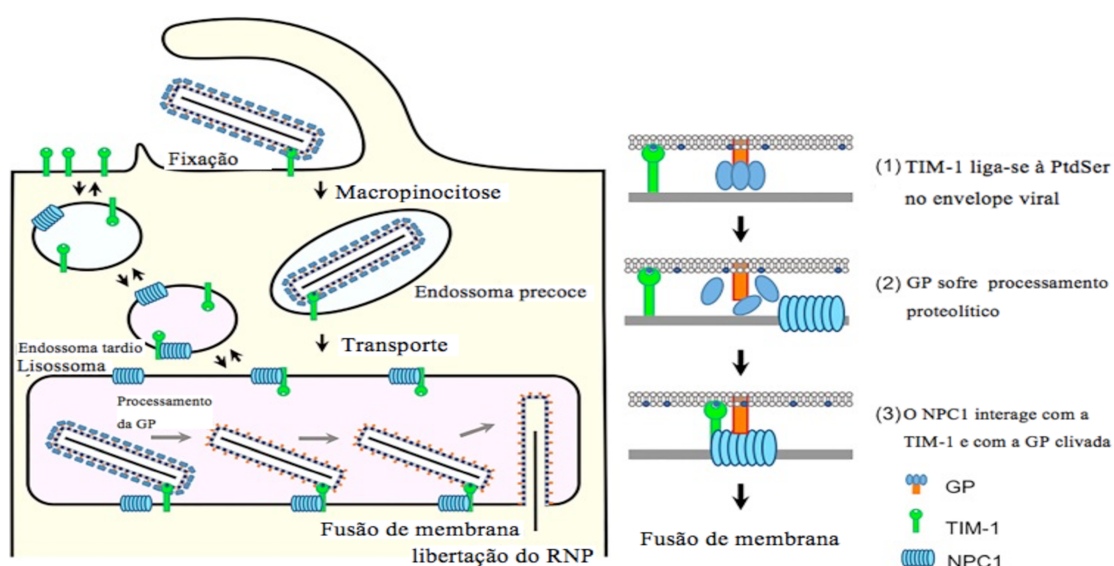


Figura 5- Papel da NPC1 e da TIM-1 na entrada do virião. No passo 1, a Tim-1 liga-se à fosfatidilserina no invólucro viral; no passo 2, ocorre a clivagem da GP, e no passo 3, ocorrem interações entre a NPC1 e a TIM-1 e dá-se a fusão da membrana. (Adaptado de (Kuroda et al., 2015))

Em suma, a entrada do vírus Ébola nas células alvo é extremamente complexa e exige a ligação das glicoproteínas do invólucro a múltiplos receptores e co-receptores celulares num processo que envolve, primeiro, macropinocitose, depois endocitose e, finalmente, fusão do invólucro com a membrana do endossoma, com a consequente libertação da nucleocápside para o citoplasma celular.

Também os canais de cálcio endossomais das células do hospedeiro parecem ser bastante importantes pois pensa-se estarem envolvidos do transporte endossomal das partículas virais desde a sua entrada até o sítio onde ocorre a fusão. (Messaoudi, Amarasinghe & Basler, 2015)

No citosol, local onde as proteínas virais e ácido ribonucleico que compõem a nucleocápside foram libertados após a ligação e fusão do vírus com a membrana das células do hospedeiro, ocorre então a replicação e transcrição do vírus e também a inibição pelas VP35 e VP24 da resposta desencadeada pelo sistema imunitário (Figura 6). (Lai et al., 2014)

No citoplasma, o genoma viral é utilizado como molde para replicação e transcrição, sendo produzidas cópias dos antígenomas de cadeia de RNA positiva (Figura 6). (Passi et al., 2015) Estes antígenomas são depois utilizados como moldes para gerar novos genomas virais (RNA de polaridade negativa). (Passi et al., 2015) No processo de transcrição participa a RNA polimerase, a VP30, que é absolutamente essencial para dar início à transcrição, e a VP35, todas elas contidas no complexo ribonucleoproteico RNP, que se encontra na nucleocápside, bem como a NP e a VP24. (Biedenkopf, Lier & Becker, 2016)

Segundo alguns estudos, para a VP30 ser capaz de acionar a transcrição, ela precisa de ser desfosforilada, mas parece que a fosforilação transitória desta proteína também é necessária ao vírus. (Biedenkopf et al., 2016) A VP30 é fosforilada em seis resíduos de serina N-proximais e na treonina 143 e 146, sendo que para despoletar a transcrição do vírus, apenas é necessário que a serina que se encontra na posição 29 sofra fosforilação. (Biedenkopf et al., 2016)

Para que a replicação do genoma viral ocorra, são igualmente necessárias as proteínas requeridas para a transcrição, à exceção da VP30. (Messaoudi et al., 2015) Além disso, a replicação do genoma e a transcrição parecem ser ainda mediados pela proteína de matriz VP40, embora o mecanismo não seja claro. (Lai et al., 2014)

A tradução do mRNA viral leva à síntese das proteínas virais. (Mühlberger, 2007) Depois da tradução e replicação terem acontecido, ocorre a formação da nucleocápside, da matriz e do invólucro na face interna da membrana citoplasmática para formar partículas virais maduras e depois, à saída da superfície da membrana, ocorre a montagem das partículas virais por gemulação do invólucro viral, sendo estas partículas libertadas (Figura 6). (Passi et al., 2015)

A proteína da matriz VP40 desempenha várias funções, entre elas conferir estabilidade ao vírus. (Adu-Gyamfi et al., 2014) Para além disso, esta proteína participa

no processo de gemulação do vírus, bem como está encarregue pela montagem e libertação das partículas virais, tal como a outra proteína da matriz, a VP24. (Ohimain, 2015) A VP40 é de tal forma importante que se não estiver presente, a formação das partículas do vírus não consegue ser realizada, uma vez que o transporte da nucleoproteína para a membrana plasmática não é efetuado de uma forma eficaz. (Adu-Gyamfi et al., 2014) Sabe-se também que esta proteína é capaz de produzir partículas bastante parecidas com as do vírus (VLPs), em células humanas, mesmo que todas as restantes proteínas não se encontrem presentes. (Adu-Gyamfi et al., 2014)

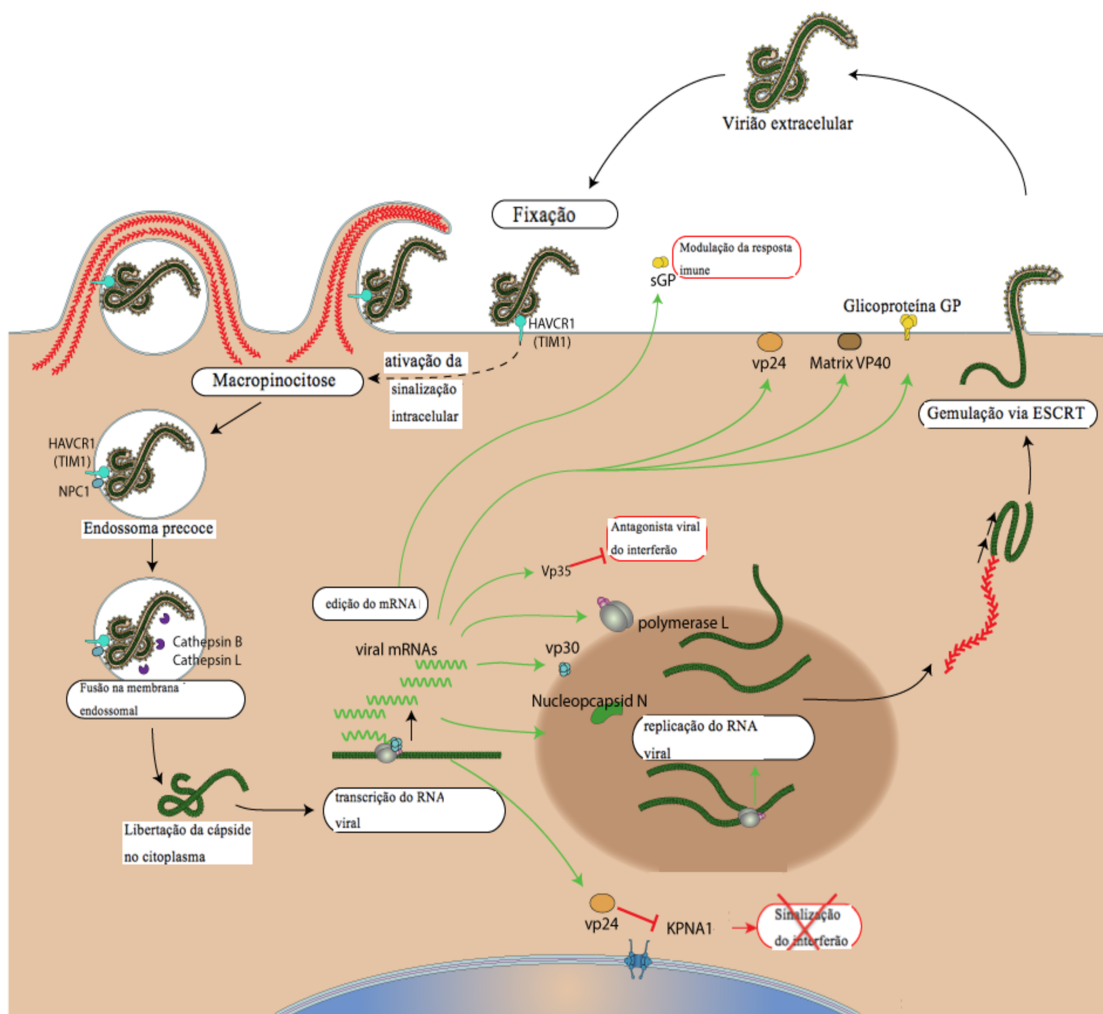


Figura 6- Ciclo de replicação do vírus Ébola. Esta figura ilustra de forma completa todos os processos sofridos pelo vírus. Depois da fixação, entrada e fusão do vírus na célula hospedeira, ocorre então a transcrição, tradução e replicação do vírus, seguida de gemulação, sendo que uma vez libertado o virião, inicia-se todo o processo novamente. Nesta figura observa-se a presença do recetor TIM-1 na membrana celular do hospedeiro, ligando-se à GP1 do vírus, facilitando deste modo a sua entrada. Além disso, através da emissão de sinais do recetor TIM-1, bem como da família TAM, como já foi referido, é induzido o processo de macropinocitose, levando à entrada do virião para as vesículas endossomais.

Nestas vesículas, é observada uma interação entre a TIM-1 e a NPC1, que depois do processamento proteolítico efetuado pelas catepsinas B e L, permite a fusão da membrana viral com a membrana do hospedeiro, havendo a libertação da cápside no citoplasma. Para a transcrição do genoma viral são requeridas a RNA polimerase, a NP, a VP30, VP35, VP24 e a VP40, sendo necessárias as mesmas proteínas para a replicação, à exceção da VP30. No fim de todas as proteínas do vírus estarem formadas e presentes na face interna da membrana, ocorre a montagem das partículas virais por gemulação do invólucro viral, sendo libertadas. Este processo de gemulação realizado através do complexo de triagem endossomal requerido para o transporte (ESCRT). Relativamente ao sistema imunitário, é ainda possível visualizar a inibição por parte das VP35 e VP24 da resposta desencadeada pelo sistema imunitário, bem como a secreção da sGP a partir das células infetadas, que serve de decoy, diminuindo a resposta imunitária adquirida. (Adaptado de (ExpASy, 2014b))

3. Epidemiologia

A distribuição da doença por vírus Ébola não foi sempre constante ao longo dos anos, tendo ocorrido através de surtos esporádicos, sobretudo em África. (CDC, 2016c)

Foi junto ao rio Ébola, na aldeia de Yambuku, situada na República Democrática do Congo (antigo Zaire) que, em 1976, se registou o primeiro surto da doença por vírus Ébola (Ébola Zaire). (Meyers et al., 2015) Nesse ano foram registados no Zaire 318 casos, 280 dos quais resultaram em morte. (CDC, 2016a)

Este vírus foi então identificado no Instituto de Medicina Tropical de Amberes, situado na Bélgica (Menéndez et al., 2014), através da análise de uma amostra de sangue recolhida de uma enfermeira atingida pelo surto no Zaire. (Passi et al., 2015)

Ao que parece, simultaneamente ao surto no Zaire, foi também registado um outro surto, provocado pelo vírus Ébola Sudão, em Nzara, uma cidade localizada no Sudão. (CDC, 2016a)

O vírus Sudão começou por contagiar pessoas que se encontravam a trabalhar numa fábrica de processamento de algodão e assim que um dos trabalhadores foi hospitalizado por apresentar manifestações clínicas, iniciou-se uma transmissão tal, que em apenas um mês, aproximadamente 73 trabalhadores hospitalares contraíram a doença, sendo que para 41 dessas pessoas, a doença se revelou fatal. (Shears & O'Dempsey, 2015)

Quando este surto foi dado como extinto, foram contabilizadas 284 infeções, das quais 151 resultaram em morte. (Shears & O'Dempsey, 2015)

Apesar dos surtos no Sudão e no Zaire, em 1976, o vírus não se propagou para fora do centro de África. Ao longo do tempo, foram surgindo surtos esporádicos da doença, (Ohimain, 2015) apenas cerca de 20, mas à semelhança do que aconteceu nos primeiros surtos, o vírus ficou maioritariamente contido em pequenas áreas do continente africano, mais precisamente, (Ohimain, 2015) em locais campestres do centro e oriente, como ilustra a imagem que se segue, que permite ter uma ideia mais geográfica da ocorrência dos surtos (Figura 7).

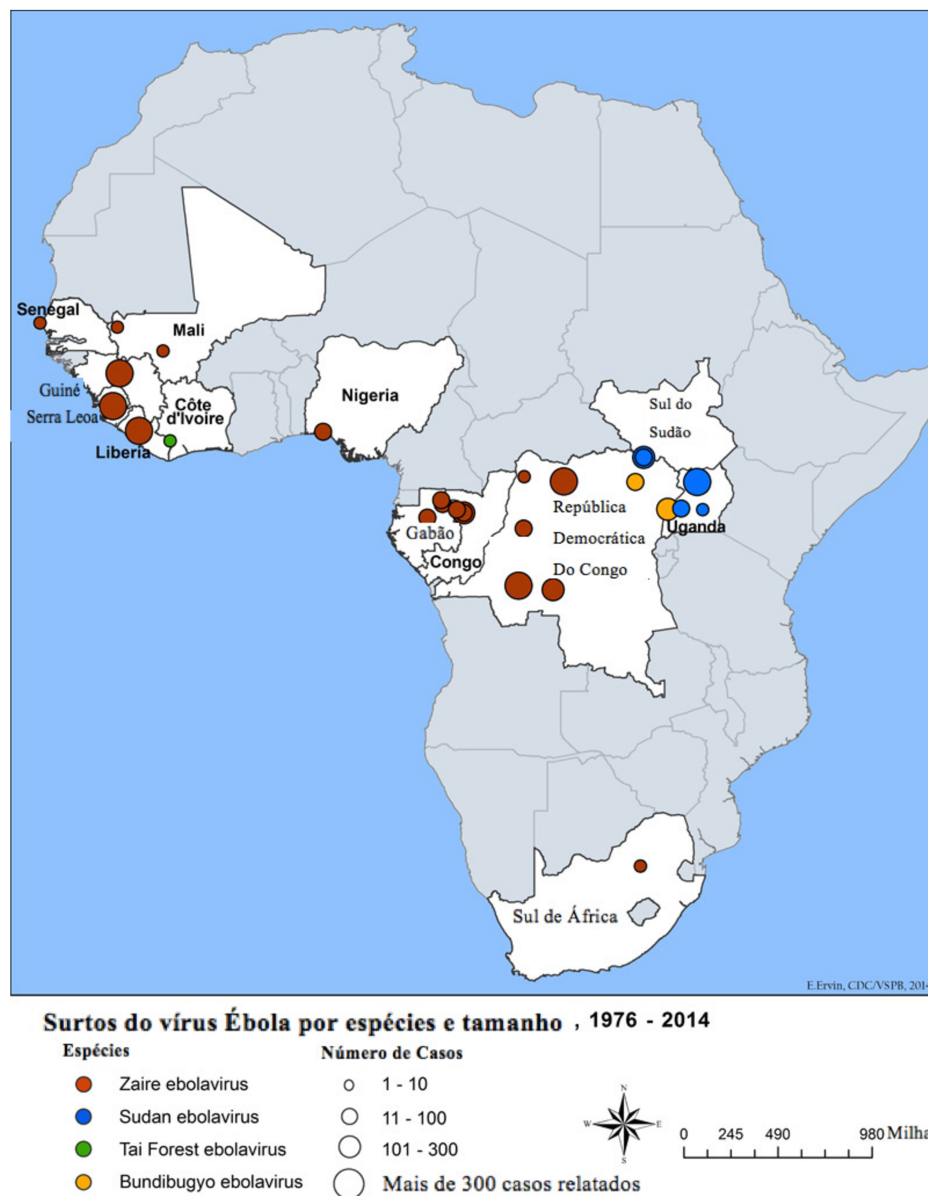


Figura 7- Representação geográfica do número de casos da EVD em África, de acordo com a espécie e respectivo local de ocorrência, até 2014. (Adaptado de (CDC, 2014c))

Contudo, ainda em 1976, foi verificado em Inglaterra um caso devido a uma contaminação acidental em laboratório (pelo vírus Ébola Sudão) e, em 1989, ocorreu uma morte na Rússia, também devido a uma contaminação em laboratório (pelo vírus Ébola Zaire). (CDC, 2016a)

Para além destes casos excepcionais registados fora de África, em 1989, foi encontrada uma outra espécie do vírus Ébola, o vírus Ébola Reston. (Passi et al., 2015) Esta nova espécie foi encontrada em Reston, uma região que pertence ao estado norte

americano da Virgínia, e na Pensilvânia, em macacos contaminados com o vírus que tinham vindo das Filipinas. (Passi et al., 2015) Posteriormente, o vírus Ébola Reston foi ainda responsável por vários outros surtos fora de África, nomeadamente na cidade de Alice, no Texas e em Itália. (Passi et al., 2015) Mais tarde, em 2008, voltou a registar-se um surto nas Filipinas, em que desta vez o vírus foi encontrado em porcos. (Passi et al., 2015) Em nenhum destes surtos há registos de morte, como se pode observar na tabela 1.

Tabela 1- Surtos provocados pelo vírus Ébola Reston (Adaptado de (Passi et al., 2015))

Ano	Localização	Nº de Casos Reportados Comprovados*
1989	Virgínia, Texas, Pensilvânia	0
1990	Virgínia e Texas	4
1989-1990	Filipinas	3
1992	Italy	0
1990	Alice, TX	0
1996	Filipinas	0
Nov 2008	Filipinas †	6
Total		13

*Humanos com evidência serológica de infecção, mas sem doença clínica
†Associado à criação de suínos

Em 1994, foi descoberta a estirpe Tai Forest do vírus Ébola. (Weyer et al., 2015) O surto terá tido início na selva, nesse mesmo ano, em chimpanzés africanos (Passi et al., 2015), tendo posteriormente sido contraído por uma senhora suíça no seu local de trabalho, mais precisamente no parque nacional Tai, situado na Costa do Marfim. (Weyer et al., 2015) Este contágio ocorreu enquanto a trabalhadora do parque realizava uma necropsia a um chimpanzé morto que tinha sido alvo de uma infeção por parte do vírus. (Passi et al., 2015)

A análise de alguns chimpanzés deveu-se ao fato de, nessa altura, estar a ocorrer um número bastante elevado de mortes entre os chimpanzés e não se saber ao certo qual seria o motivo para tal acontecimento. (Weyer et al., 2015)

Até ao momento, este foi o único caso registado de uma pessoa infetada com o vírus Ébola Tai Forest e, portanto, pensa-se que esta estirpe não represente uma ameaça à vida humana, uma vez que a pessoa recuperou da infeção. (Weyer et al., 2015)

No ano de 2007, foi descoberta uma quinta estirpe do vírus Ébola, o vírus Ébola Bundibugyo, um vírus menos mortal do que o Zaire e o Sudão. (Shears & O'Dempsey, 2015) Esta descoberta foi feita num surto ocorrido em Uganda, no qual foram reportados 147 casos. (Shears & O'Dempsey, 2015)

Na tabela que se segue, encontra-se um resumo dos surtos ocorridos em África, que mostra o número de casos reportados, taxa de mortalidade e também em que circunstâncias gerais se deram os referidos surtos. (Tabela 2)

Tabela 2- Registo pormenorizado dos surtos ocorridos em África entre 1976 e 2012/2013 (Adaptado de (Shears & O'Dempsey, 2015))

Ano	País	Espécie	Casos reportados	TM (%)	Situação ^a
1976	Sudão	Sudão	284	53	2
1976	Zaire (DRC)	Zaire	318	88	2
1979	Sudão	Sudão	34	65	3
1994	Gabão	Zaire	52	60	1
1994	Côte d'Ivoire	Tai Forest	1	0	1
1995	DRC	Zaire	315	81	2
1996 (i)	Gabão	Zaire	37	57	1
1996 (ii)	Gabão	Zaire	60	74	1
2000–2001	Uganda	Sudão	425	53	2
2001–2002	Gabão	Zaire	65	82	1
2001–2002	Republic of the Congo	Zaire	57	75	1
2002–2003	Republic of the Congo	Zaire	143	89	1
2003	Republic of the Congo	Zaire	35	83	1
2004	Sudão	Sudão	17	41	3
2005	Republic of the Congo	Zaire	12	80	1
2007	DRC	Zaire	264	71	1, 3
2007–2008	Uganda	Bundibugyo	149	25	3
2008–2009	DRC	Zaire	32	47	1
2012	Uganda	Sudão	11	36	3
2012	DRC	Bundibugyo	36	36	1, 3
2012–2013	Uganda	Sudão	6	50	3

TM, taxa de mortalidade; DRC, República Democrática do Congo.

^a Situação epidemiológica: (1) floresta/área remota; (2) Centro hospitalar, com disseminação; (3) Comunidade e hospital

Em 2013, a história do vírus Ébola viria a levar uma trágica mudança, assolando o continente africano e ceifando milhares de vidas, um pouco por toda a parte.

O primeiro caso deste surto aconteceu numa aldeia da Guiné, em Dezembro de 2013, num menino de apenas 2 anos, sendo apenas o começo de um cenário mais grave.

(Onwuakor, 2014) A partir daí a doença espalhou-se para os países vizinhos, nomeadamente para a Libéria e Serra Leoa, seguida da Nigéria, Senegal e posteriormente, para o Mali. (Ohimain, 2015) É de salientar que este surto apenas foi anunciado oficialmente em 2014. (Ohimain, 2015)

Em Setembro de 2014, um paciente vindo da Serra Leoa com a doença por vírus Ébola foi enviado para Espanha, onde acabou por morrer e contaminar a enfermeira que o tratava. (Parra, Salmerón & Velasco, 2014) Este foi o primeiro caso fora de portas africanas mas não viria a ser o último. Apesar de tudo, em Espanha não foram registados mais casos e nenhuma das pessoas que estabeleceu contacto com a enfermeira foi infetado. (Parra et al., 2014)

No Reino Unido foi também observado um caso importado, bem como em Itália mas, felizmente, não se verificou expansão da doença. (CDC, 2016b) Nos Estados Unidos foram 4 os casos confirmados da doença (CDC, 2016b), sendo que a fonte inicial de transmissão foi um caso importado. (Direção-Geral da Saúde, 2014a) A tabela 3 reflete a realidade vivida no epicentro do surto.

Tabela 3- Registo do número de casos e mortes confirmadas nos principais locais afetados pelo surto do vírus Ébola de 2014 (Adaptado de (CDC, 2016b))

País	Total de Casos (suspeitos, prováveis e confirmados)	Casos Confirmados em Laboratório	Total de mortes
Guiné	3814	3358	2544
Serra Leoa	14124	8706	3956
Libéria	10678	3163	4810
Total	28616	15227	11310

Nesse mesmo ano, ocorreu também um surto na República Democrática do Congo, com um registo de 66 pessoas infetadas e 49 mortes. (CDC, 2016a)

Em Agosto de 2014, a Organização Mundial de Saúde reconheceu oficialmente o perigo e gravidade desta epidemia provocada pelo Ébola Zaire e considerou-a uma emergência de saúde pública a nível global. (Ohimain, 2015)

Não se sabe ao certo o número de casos resultantes do surto do vírus Ébola no oeste de África (provocado pelo ebolavírus Zaire), mas pensa-se que sejam mais de vinte e sete mil os casos reportados, dos quais pelo menos onze mil foram fatais (CDC, 2016a)

Felizmente, a situação mais recentemente acabou por estabilizar, tendo a Organização Mundial de Saúde declarado oficialmente o fim da transmissão do vírus Ébola em Junho deste ano, na Guiné e na Libéria. (World Health Organization, 2016a) Esta declaração já tinha sido feita em Dezembro de 2015 na Guiné, e em Maio e Setembro de 2015 na Libéria, bem como em Janeiro deste ano mas acabaram sempre por surgir novos casos posteriormente. (CDC, 2016b) Na Serra Leoa, a segunda declaração surgiu em Março de 2016, sendo que a primeira tinha ocorrido em Novembro de 2015. (CDC, 2016b)

Para a Guiné e Libéria seguiu-se um período de 90 dias pautado por uma forte vigilância, de forma a assegurar que o aparecimento de novos casos era detetado antes do vírus ser transmitido para outras pessoas. WHO (2016a)

Parece assim chegar ao fim esta “peste negra” do século XXI, dando início a uma nova etapa com atenção redobrada e precauções e medidas de seguranças mais apertadas.

4. Transmissão

Ao que tudo indica, o vírus necessita dos hospedeiros para se poder replicar e consequentemente sobreviver. (Passi et al., 2015)

O vírus pode ser transmitido de pessoa para pessoa quando alguém sem a doença entra em contacto direto com os fluidos corporais de uma pessoa que esteja infetada e já com sintomas. (Centers for Disease Control and Prevention, 2015a) Esta transmissão pode ocorrer mesmo que a pessoa que constitui o foco da infeção esteja já morta, como aconteceu em muitos surtos, durante os rituais fúnebres (Bray & Chertow, 2016), porque o vírus, após a morte, pode permanecer ativo nos fluidos corporais ainda durante algum tempo. (CDC, 2015b) (Figura 8)



Figura 8- Ciclo transmissivo do vírus Ébola. Nesta figura estão representadas as vias de transmissão entre animais, entre pessoas desprotegidas e entre pessoas e animais. (Adaptado de (CDC, 2016d))

Por fluidos corporais entendem-se sangue, vômitos, saliva, fezes, suor, sémen e urina, sendo que o vírus é capaz de entrar através de membranas mucosas que não estejam devidamente protegidas como o nariz, olhos e boca ou através de lesões na pele, tais como cortes, feridas abertas e escoriações. (CDC, 2015b) Ao que parece, o vírus pode ainda existir nos fluidos vaginais, humor aquoso, leite materno e lágrimas, sendo que o sangue, as fezes e os vômitos são considerados o maior foco de infeção em relação aos fluidos corporais. (Bray & Chertow, 2016) No entanto, ficou estabelecido que não é apenas um contacto casual com alguém doente que é capaz de provocar infeção noutra pessoa. (CDC, s.d.)

Felizmente, parece não existir transmissão da doença pela água ou ar (CDC, 2015a), por tosse ou espirros. (CDC, 2015b) Contudo, apesar de não existirem casos reportados de transmissão aérea, tem de haver um cuidado redobrado de proteção das mucosas pois no caso de alguém estar próximo de uma pessoa doente, e essa pessoa doente espirrar ou tossir, podem daí advir gotículas que poderão conseguir entrar nas mucosas da outra pessoa. (Passi et al., 2015) Até porque, num estudo realizado em roedores e primatas não humanos, foi verificado que o vírus torna-se bastante infeccioso para estes animais se for transmitido por aerossóis. (Bray & Chertow, 2016)

Um outro dado bastante preocupante é que o vírus tem a capacidade de conseguir manter-se em determinados fluidos corporais e não ser encontrada a sua presença no sangue. (Bray & Chertow, 2016) Por exemplo, existem vários relatos, nomeadamente de um caso de um senhor que ainda apresentava o vírus no sémen cerca de 199 dias depois de terem começado a surgir os primeiros sintomas da doença e, mesmo depois dos seus testes sanguíneos terem sido negativos em relação à presença do vírus, mais precisamente passados 5 meses, houve transmissão a uma parceira sexual. (Bray & Chertow, 2016) Portanto, a transmissão do vírus Ébola através de relações sexuais ou outro contacto com o sémen é uma possibilidade. (CDC, 2015a)

Por este motivo, é muito importante que em caso de haver relações sexuais com sobreviventes da doença, estas devam ser protegidas (CDC, 2015b), uma vez que o vírus pode permanecer neste fluido por tempo desconhecido. (CDC, 2015a) Aliás, o que é recomendado é que deve existir proteção durante um ano desde as primeiras manifestações clínicas ou então até os testes de deteção do vírus no sémen apresentarem resultados negativos duas vezes. (WHO, 2016b)

Além das pessoas infetadas representarem um perigo de contaminação para as outras, também os objetos constituem um perigo de contaminação acidental se não existirem as devidas proteções. (Rewar & Mirdha, 2014) Isto porque o vírus é capaz de permanecer em objetos que contenham fluidos corporais infetados, seja em vestuário, roupa de cama (DGS, 2014b), seja em material médico como seringas e agulhas, ou até mesmo em superfícies secas como maçanetas ou bancadas, onde por exemplo, neste caso é capaz de permanecer algumas horas. (CDC, 2015b) Contudo, se o vírus estiver à temperatura ambiente, ele é capaz de se manter nos fluidos corporais durante vários dias. (CDC, 2015b)

Ao que parece, quando a transmissão da doença é feita através das injeções, a probabilidade de morte é maior. (Galán-Huerta et al., 2014)

Apesar disso, este modo de transmissão por objetos contaminados parece ocorrer com pouca frequência (Passi et al., 2015), ao contrário da transmissão de pessoa para pessoa, que parece ser a principal via para adquirir a doença. (Rewar & Mirdha, 2014)

Uma outra via de transmitir a doença é através do contacto direto com os fluidos corporais de animais que tenham a doença, estejam eles vivos ou mortos. (DGS, 2014b) Apesar de não existir transmissão através dos alimentos em geral, o Homem pode ficar infetado, principalmente em África, por exemplo através da caça e preparação/contacto com carne de animais doentes para comer. (Bray & Chertow, 2016) (Figura 8) Entre os animais que podem ser infetados pelo vírus estão os macacos, gorilas, chimpanzés, antílopes florestais e porcos-espinhos. (WHO, 2016b) (Figura 8)

Até agora não existem quaisquer provas de que a transmissão da doença possa ser realizada por insetos, nomeadamente pelos mosquitos. (Rewar & Mirdha, 2014)

4.1. Origem (Reservatórios naturais)

Até ao momento, pensa-se que o reservatório natural do vírus, onde este se aloja sem causar sintomas, é o morcego frugívoro da família Pteropodidae. (WHO, 2016b) (Figura 8) Entre as espécies da família em que o vírus já foi identificado encontram-se a *Epomops franqueti*, *Hypsignathus monstrosus* e *Myonycteris torquata*. (Passi et al., 2015) Ao que parece, é através do contacto com os morcegos e seus fluidos que os

outros animais ficam infetados (CDC, 2016d), nomeadamente pela ingestão de alimentos contaminados com saliva dos morcegos, como por exemplo a fruta. (DGS, 2014a)

Além disso, pensa-se também que o primeiro contágio em humanos ocorra pelo contacto com os animais doentes, sejam eles primatas ou morcegos, sendo este fenómeno designado por spillover. (CDC, 2015a)

4.2. Fatores de risco

Segundo o estudo que foi realizado durante o último grande surto, o qual teve a participação de pelo menos 4500 pessoas, ficou demonstrado que os fatores que levaram a uma maior probabilidade de morte foram a idade, mais precisamente as pessoas que apresentavam mais de 45 anos, o estado de coma ou inconsciência e também o sangramento nasal. (Menéndez et al., 2014)

Para além disso, os grupos de risco, que como o próprio nome indica, estão mais suscetíveis ao vírus, são as mulheres que se encontram grávidas, os idosos e também as crianças, particularmente aquelas que têm uma idade ainda inferior a 5 anos. (Menéndez et al., 2014) As grávidas são mais suscetíveis no sentido de terem uma maior probabilidade de desenvolverem complicações graves e morrerem, mas o risco de contrair a doença é o mesmo que nas restantes pessoas. (CDC, 2016e)

No entanto, uma mulher que contraia o vírus e recupere, pode posteriormente engravidar, sem que isso comprometa a saúde do filho, uma vez que neste caso não existe qualquer transmissão do vírus e, portanto, não constitui um fator de risco para o filho. (World Health Organization, 2015a) Os filhos destas mulheres só apresentam um fator de risco caso as suas mães tenham estado em contacto com pessoas ou animais com a doença ou tenham contraído a doença já grávidas ou então caso tenham sobrevivido à doença já em estado de gestação. (WHO, 2015a)

No geral, quem se encontre em locais considerados de risco de transmissão da doença tem naturalmente uma maior probabilidade de ser contagiado, bem como as pessoas que estão em contacto próximo com pessoas infetadas ou que morreram da doença, como por exemplo os profissionais de saúde, se não estiverem devidamente

protegidos com o equipamento de proteção pessoal (PPE), e também quem tenha tido um contacto próximo com animais ou objetos infetados tem uma possibilidade superior de ser infetado. (Rewar & Mirdha, 2014)

Relativamente aos profissionais de saúde, de acordo com o tipo de exposição a que são submetidos, o risco de serem infetados pode ser avaliado em muito baixo, baixo, intermédio, alto ou, na pior das situações, risco máximo. (Jacobs et al., 2015) (Figura 9)

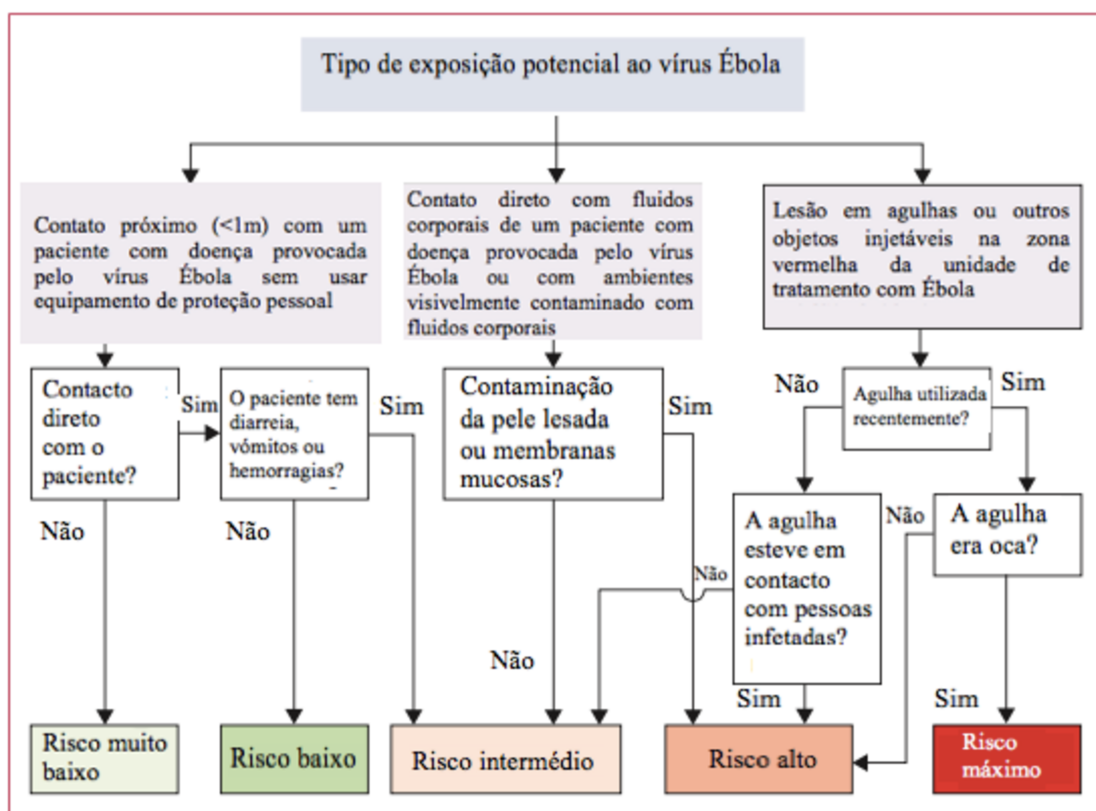


Figura 9- Avaliação do risco dos profissionais de saúde contraírem a doença em detrimento do tipo de exposição a que estiveram sujeitos. (Adaptado de (Jacobs et al., 2015))

5. Patogênese

Com exceção de alguns dados obtidos durante o recente surto ocorrido no oeste africano, quase todos os dados de patogênese da infecção por vírus Ébola foram obtidos em modelo animal (rato, porquinho da Índia e primatas não humanos). (Bray & Chertow, 2016) O vírus tem a capacidade de suprimir a resposta do sistema imunitário, nomeadamente através das suas proteínas VP24 e VP35, bem como através da sGP, que é secretada pelo vírus a partir das células infetadas (Figura 10). (Hunt et al., 2012; Menéndez et al., 2014) Por outro lado, o vírus consegue replicar-se nas células dendríticas, comprometendo a sua função de responsabilidade primária para o início da resposta imune adaptativa. (Bray & Chertow, 2016) Para além de infetar as células dendríticas, que deixam de conseguir ativar os linfócitos T naïve para a defesa do organismo, o vírus infeta também os macrófagos e monócitos, onde se replica, conseguindo desta forma disseminar-se, resultando muitas vezes na morte para o hospedeiro. (Choi & Croyle, 2013; Meyers et al., 2015) Uma vez infetados os macrófagos, o vírus induz a libertação de citocinas e quimiocinas em larga escala, provocando uma resposta inflamatória generalizada, levando a distúrbios ao nível da coagulação e ao aumento da permeabilidade dos vasos sanguíneos, que pode conduzir nomeadamente a grandes hemorragias (Figura 10). (Choi & Croyle, 2013; Meyers et al., 2015)

Além de se ir replicando nas células envolvidas na resposta imunitária mencionadas anteriormente, o vírus pode provocar também lesões em vários órgãos, uma vez que vai infetando outros tipos de células onde se encontram os recetores de que precisa, como é o caso dos hepatócitos, levando a danos nesses tecidos e consequentemente à falha hepática (Figura 10). (Choi & Croyle, 2013; Galán-Huerta et al., 2014; Meyers et al., 2015)

5.1. Invasão e disseminação do vírus no organismo hospedeiro

Na infeção pelo vírus Ébola, este tem como alvos preferenciais os macrófagos, as células dendríticas e os monócitos, sendo que dirige-se também a órgãos como o fígado e as glândulas supra-renais, fibroblastos, células epiteliais e endoteliais, que são tidos como alvos secundários. (Galán-Huerta et al., 2014)

Uma vez que os macrófagos, monócitos e células dendríticas são os primeiros alvos do vírus no início da infecção, são portanto muito importantes na sua disseminação, já que é a partir daí que ele se começa a propagar para os nódulos linfáticos e para órgãos como o fígado e baço, através do sistema linfático e sangue, respetivamente, sendo depois a infecção propagada para outros tecidos através dos macrófagos, monócitos e células dendríticas infetados. (Galán-Huerta et al., 2014)

O vírus é capaz de se propagar rapidamente e de uma forma global pois o seu ataque repentino às células alvo em combinação com a infecção que consegue provocar nas células dendríticas leva a um comprometimento das respostas do sistema imunitário por parte do organismo atingido. (Passi et al., 2015)

Uma vez infetadas as células sentinela do sistema imunitário, como os macrófagos e as células dendríticas, o vírus replica-se e causa a sua necrose, o que permite a libertação das novas partículas virais. (Bray & Chertow, 2016)

Conforme a infecção vai avançando, aumenta a probabilidade de ocorrer uma disfunção e perda da integridade vascular, uma vez que o vírus acaba também por infetar as células endoteliais, células estas que cobrem o interior dos vasos sanguíneos. (Passi et al., 2015)

Os neutrófilos, parte integrante do sistema imunitário, são também infetados pelo vírus, pelo que não conseguem impedir o avanço do vírus. (Passi et al., 2015) Além disso, são ainda utilizados como meio de transporte para chegar aos pulmões, ao baço, ao fígado e aos gânglios linfáticos. (Passi et al., 2015)

Relativamente à sGP, sabe-se que está envolvida na fuga do vírus à resposta do sistema imunitário, uma vez que há uma secreção abundante da sGP a partir das células infetadas, que serve de decoy, estabelecendo ligações com os anticorpos neutralizantes, impedindo deste modo que os anticorpos se liguem à GP1 do virião e que sejam capazes de neutralizar a infeciosidade viral (Figura 10). (Hunt et al., 2012; Choi & Croyle, 2013; Lai et al., 2014; Menéndez et al., 2014) Isto porque a GP1 constitui o primeiro alvo dos anticorpos no início da infecção, uma vez que é a única proteína que se encontra na superfície do invólucro viral. (Hofmann-Winkler et al., 2012) Sabe-se também que a sGP estará envolvida na desregulação endotelial vascular, uma vez que provoca lesões

nas células endoteliais, o que conduz ao aumento da permeabilidade e distúrbios na coagulação. (Menéndez et al., 2014)

Além disto, sabe-se também que os radicais oligossacarídicos conservados que se encontram na subunidade GP1, conseguem ocultar os epitopos neutralizantes, impedindo assim a neutralização do vírus pelos anticorpos. (Lennemann et al., 2014)

Devido às lesões que o vírus provoca no fígado, há também uma redução dos níveis da proteína C no plasma, o que pode também contribuir para as coagulopatias que ocorrem nas fases avançadas da doença, uma vez que esta proteína inibe a coagulação. (Bray & Chertow, 2016)

Relativamente à hipotensão e perda de sódio que têm sido observadas na maioria dos casos da doença, pensa-se que resultem da infecção da glândula suprarrenal pelo vírus Ébola, uma vez que o córtex adrenal está envolvido na regulação da pressão sanguínea e ao ser infetado, leva a uma deficiente secreção dos esteroides, nomeadamente da aldosterona (Figura 10). (Feldmann & Geisbert, 2011; Galán-Huerta et al., 2014)

Em relação às proteínas virais VP24 e VP35, sabe-se que são muito importantes, pois conseguem auxiliar o vírus a escapar à resposta inata produzida pelo sistema imunitário do indivíduo infetado, uma vez que interferem na atividade do interferão α e β do tipo 1. (Menéndez et al., 2014; Srivastava et al., 2015)

A VP24 impede a transdução de sinal por parte da cinase Janus, inibe também o JAK-STAT, que é um ativador da cascata de sinalização da transcrição (Hill-Batorski et al., 2013), bem como bloqueia também a heterodimerização da tirosina cinase 2 (TKY-2). (Menéndez et al., 2014) Ainda acerca da VP24, sabe-se que está envolvida na inibição da MAP cinase p38. (Choi & Croyle, 2013) Além disso, foi também demonstrado que a VP24 inibe a sinalização do interferão do hospedeiro, uma vez que compete com a STAT1 pela ligação à carioferina alfa 1 (KPNA1), impedindo assim a acumulação nuclear do STAT1. (Srivastava et al., 2015) Ao inibir a sinalização do interferão, a VP24 impede deste modo que as defesas contra o vírus Ébola sejam ativadas através da sinalização celular externa. (Menéndez et al., 2014; Srivastava et al., 2015)

Já a VP35, por sua vez, inibe a atividade do interferão pois consegue impedir que os factores reguladores do interferão (IRF-3 e IRF-7) sejam ativados, que são factores de transcrição essenciais para induzir a sua expressão. (Choi & Croyle, 2013; Menéndez et al., 2014) Em relação à atividade do interferão, a VP35 consegue ainda impedir que a PKR, uma proteína cinase que depende do dsRNA, seja ativada, proteína esta que o interferão precisa para a sua síntese. (Choi & Croyle, 2013; Menéndez et al., 2014)

5.2. Resposta do sistema imunitário

Existem pessoas que contraem a doença e morrem sem sequer apresentarem anticorpos contra o vírus, mistério que parece ter sido desvendado em estudos *in vitro* que demonstraram que as células infetadas não são capazes de sofrer maturação e, por isso mesmo, não conseguem apresentar antígenos aos linfócitos T naive. (Bray & Chertow, 2016) As células dendríticas que são infetadas pelo vírus Ébola perdem a capacidade de ativar os linfócitos T naive, não conseguindo deste modo combater a infeção que é provocada. (Choi & Croyle, 2013)

A imunidade adaptativa também fica fragilizada com a perda dos linfócitos, sendo que estes sofrem apoptose, que se pensa até ao momento poder ser provocada por diversos factores, entre os quais a produção de óxido nítrico que possui propriedades pró-apoptóticas, podendo também ser devido ao receptor Fas, um recetor que se encontra na superfície das células e que leva à sua apoptose ou devido ao ligante indutor de apoptose que está relacionado com o fator de necrose tumoral (TRAIL), ou ainda devido a interações estabelecidas entre os linfócitos e as proteínas do vírus Ébola, como é o caso da GP. (Feldmann & Geisbert., 2011; Menéndez et al., 2014; Bray & Chertow, 2016) Apesar de haver uma enorme perda e apoptose dos linfócitos, tal como já referi, estes parecem permanecer não infetados pelo vírus. (Feldmann & Geisbert., 2011)

Na tentativa de responder à presença do vírus no organismo, este desencadeia uma resposta inflamatória no quadro da resposta imune contra o vírus, o que na verdade, acaba por provocar um desequilíbrio, conduzindo deste modo a um quadro de hemorragias, choque séptico e múltipla falha de órgãos, uma vez que esta resposta tende a ser excessiva e desregulada. (Menéndez et al., 2014) Portanto, a resposta inflamatória

excessiva tem um forte contributo para a morte do hospedeiro, ao invés de uma resposta bem doseada, que poderia levar a uma paragem da propagação da doença e consequente restabelecimento da mesma. (Galán-Huerta et al., 2014)

A resposta inflamatória sistémica descontrolada é despoletada em parte pela infeção dos macrófagos pelo vírus, que leva à libertação de mediadores pró-inflamatórios. (Bray & Chertow, 2016) Os produtos de degradação provenientes das células que sofreram necrose são também capazes de o fazer. (Bray & Chertow, 2016)

Entre os mediadores inflamatórios que são induzidos encontram-se por exemplo o interferão, a interleucina 2, 6, 8, 10, a MPC-1 (proteína quimiotática dos monócitos) e a IP-10 (proteína indutível do interferão gama) (Galán-Huerta et al., 2014), bem como óxido nítrico, a interleucina 1, 15, 16, a proteína MIF (fator inibitório da migração de macrófagos), a MIP-1 (proteína inflamatória dos macrófagos) alfa e beta, e o M-CSF (fator estimulador de colónias de macrófagos), ocorrendo simultaneamente a produção do fator de necrose tumoral alfa, que está envolvido na indução de febre e danos hepáticos (Figura 10). (Menéndez et al., 2014; Marzi et al., 2012)

O fator de necrose tumoral alfa, assim como a interleucina 1 beta, a MPC-1, a interleucina 6 e o óxido nítrico são todas substâncias que os macrófagos infetados são capazes de sintetizar. (Bray & Chertow, 2016)

Foi demonstrado que tanto em humanos como em primatas, existe um acréscimo dos níveis de óxido nítrico no sangue, o que parece ser umas das causas de morte. (Feldmann & Geisbert, 2011) Este aumento dos níveis de óxido nítrico que ocorre no sangue aquando da doença está, ao que tudo indica, relacionado também com a hipotensão que grande parte das pessoas que sofre da doença apresenta. (Feldmann & Geisbert, 2011) Isto porque, para além do óxido nítrico ser responsável pela diminuição da pressão sanguínea, tem igualmente de se ter em conta que este é produzido em excesso pelos macrófagos, o que agrava ainda mais a situação dos doentes. (Feldmann & Geisbert., 2011)

Para além disto, o excesso de óxido nítrico é ainda apontado como podendo estar envolvido no choque característico da doença, uma vez que pode contribuir para a apoptose dos linfócitos, para os danos provocados nos tecidos e também para a perda da integridade dos vasos sanguíneos (Figura 10). (Feldmann & Geisbert, 2011)

Aliás, tanto o óxido nítrico como o fator de necrose tumoral alfa, para além de outros mediadores, são apontados como causadores da vasodilatação e permeabilidade dos vasos sanguíneos. (Menéndez et al., 2014)

A resposta inflamatória sistémica desencadeada pelo organismo hospedeiro que parece levar a deficiências ao nível da coagulação deve-se também ao facto de, para além dos macrófagos infetados pelo vírus por si só já produzirem um fator tecidual (tromboplastina), que é o fator III de coagulação, que está envolvido no desenvolvimento da coagulação intravascular disseminada, parece que também as citocinas pró-inflamatórias são responsáveis por impulsionar este processo realizado pelos macrófagos. (Bray & Chertow, 2016; Kumar, Aster & Abbas, 2016) Portanto o excesso de tromboplastina irá levar a uma maior probabilidade de ocorrer determinados distúrbios na coagulação, como hemorragias e erupções maculopapulares (Figura 10). (Choi & Croyle, 2013)

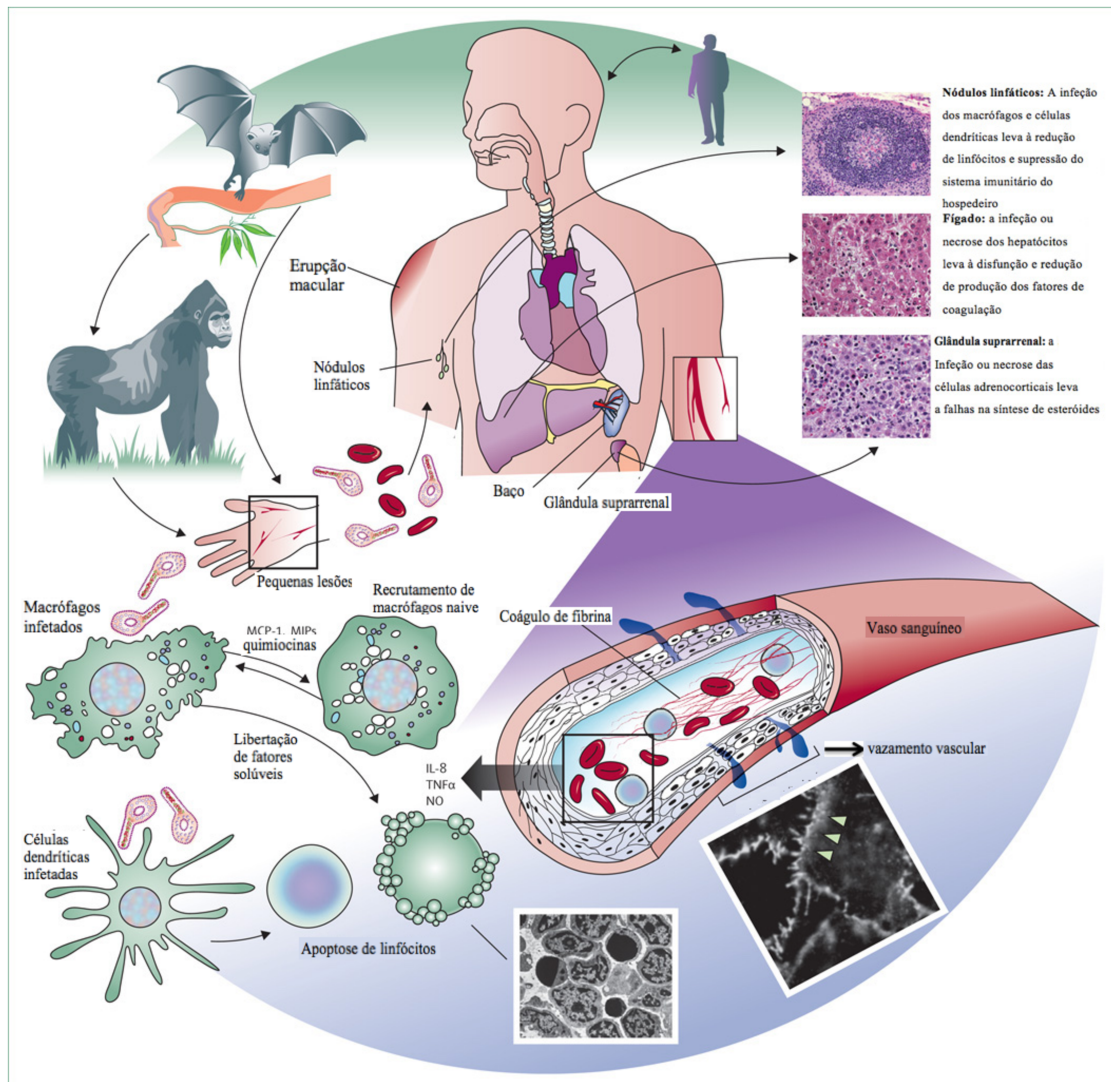


Figura 10- Invasão e disseminação do vírus Ébola. Esta figura tem presente as vias de transmissão pessoa-pessoa, animal-animal e animal-pessoa. O vírus consegue entrar através de lesões na pele, iniciando-se deste modo a transmissão. Os macrófagos são infectados e induzem mediadores inflamatórios como quimiocinas, MCP-1, MIPs, TNF- α , óxido nítrico, entre outros. As células dendríticas são também infectadas, comprometendo o sistema imunitário. Desta infecção resultam fenômenos como a apoptose de linfócitos, perda da integridade vascular, coagulopatias, rash e disseminação do vírus para os órgãos. (Adaptado de (Feldmann & Geisbert, 2011))

Em relação aos sobreviventes da doença, pensa-se que estes produzam anticorpos que podem persistir no organismo num período mínimo de 10 anos mas existem muitas coisas ainda por esclarecer nomeadamente se estas pessoas se tornam imunes ao vírus ou se podem por exemplo contrair também a doença no caso de serem contagiadas com uma espécie distinta daquela que as contagiou no primeiro episódio da doença. (CDC, 2015c)

6. Manifestações clínicas

As manifestações clínicas da doença surgem após um período de incubação, que consiste no vírus permanecer no organismo num estado de latência, sem que sejam verificados quaisquer sintomas.

Em relação aos animais, o período de incubação pode ir até aos 16 dias, sendo que em experiências realizadas em primatas verificou-se que estes deixaram de ser assintomáticos passados 3 a 5 dias, e estudos realizados em porcos induzidos com o vírus mostraram que estes se tornaram febris após 4 dias. (Spickler, 2014) Nos humanos, o período de incubação pode ir desde o segundo dia de contágio até ao vigésimo primeiro, sendo que os sintomas se revelam maioritariamente entre o quarto e o décimo dia. (Tseng & Chan, 2015) No entanto, parece que no último grande surto que ocorreu entre 2014, a maioria dos infetados manifestou os sintomas apenas ao fim de aproximadamente 11 dias. (Galán-Huerta et al., 2014)

Pensa-se que durante o período de incubação não há perigo de transmissão da infeção, o que só ocorrerá na altura em que surgem os sintomas da doença. (Meyers et al., 2015)

Os sinais e sintomas que surgem na doença por vírus Ébola antes de aparecerem as hemorragias são semelhantes a outras doenças, pelo que se podem confundir e associar erradamente por exemplo com a febre de Lassa, febre tifóide, cólera (Martines et al., 2015), malária ou dengue e com outras febres tropicais. (Passi et al., 2015) Para além dos sintomas iniciais serem similares a outras doenças endémicas, existe ainda a agravante dos doentes infetados poderem ser contaminados por outros agentes infecciosos, o que torna ainda mais difícil a tarefa de diagnosticar a doença por vírus Ébola. (Martines et al., 2015)

Após a exposição ao vírus e saída do período de incubação, começam então a surgir os primeiros sinais e sintomas da doença. A doença inicia-se de uma forma bastante repentina, que é acompanhada por febre alta, mau estar, arrepios e mialgia, que são geralmente sintomas de gripe, não sendo deste modo indicativos de uma infeção pelo vírus Ébola. (Tseng & Chan, 2015) (Figura 11) Estes primeiros sintomas surgem geralmente nos três dias iniciais das manifestações. (Menéndez et al, 2014)

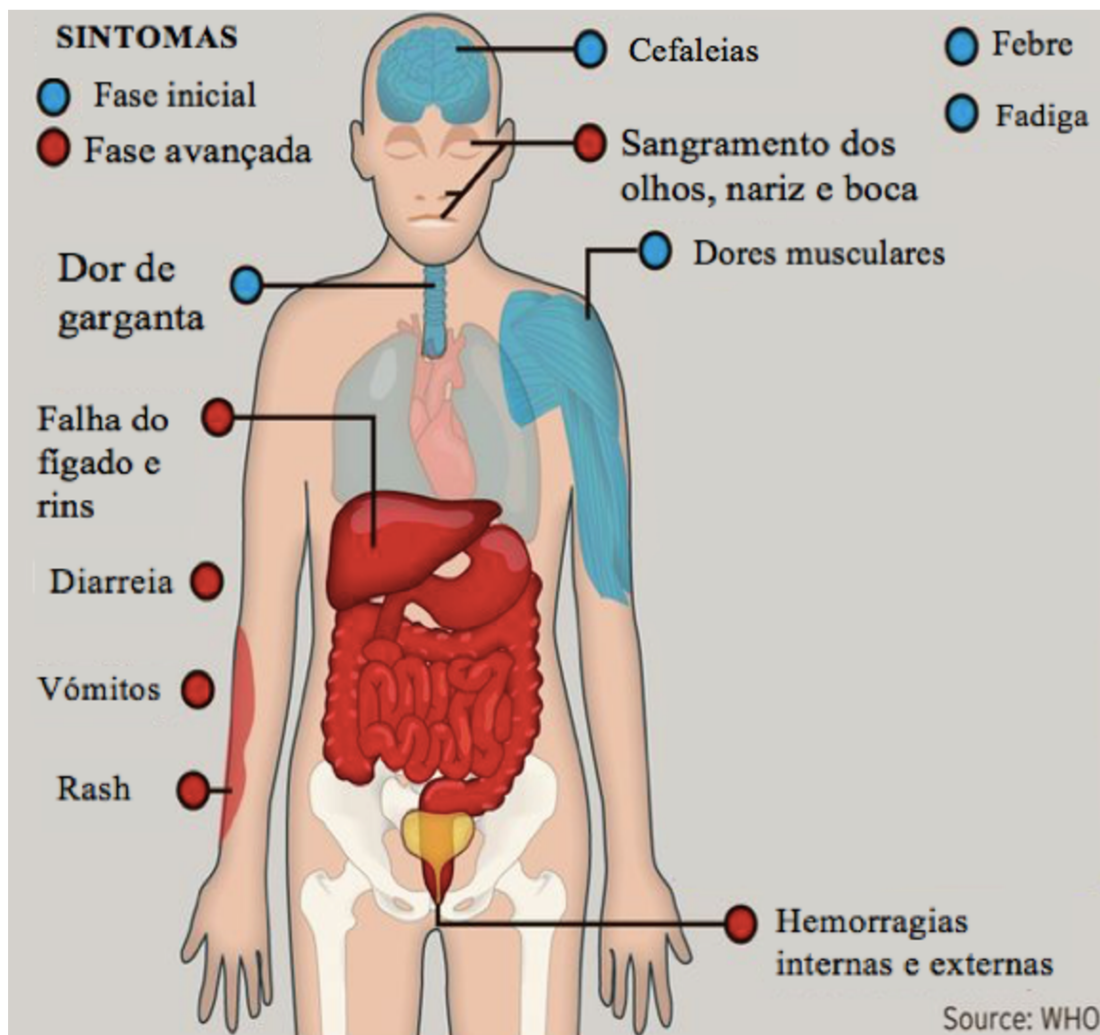


Figura 11- Sintomas precoces e tardios geralmente apresentados por pessoas infetadas com o vírus Ébola. Os primeiros sintomas são mais inespecíficos, sendo que os sintomas posteriores envolvem já todo o organismo. (Adaptado de (Cardy, P., 2014))

Nestes sintomas iniciais, podem também eventualmente surgir faringites (Meyers et al., 2015), bem como fadiga, astenia e dores nas articulações. (Passi et al., 2015) (Figura 11)

De seguida, os sintomas acabam por inevitavelmente começar a abranger o organismo um pouco por toda a parte, deixando o indivíduo num estado de prostração. (Feldmann & Geisbert, 2011) Dão-se, por exemplo, alterações a nível gastrointestinal, como dores no abdómen, diarreia, náuseas, vômitos, levando à perda de apetite e consequentemente a uma possível anorexia. (Martines et al., 2015) (Figura 11) Os vômitos tendem a acontecer com uma regularidade bastante alta e a consistência da diarreia tende a ser mais líquida (Menéndez et al., 2014), podendo a pessoa infetada

chegar a perder diariamente um volume de até dez litros. (Bray & Chertow, 2015) A duração destes sintomas não costuma exceder os sete dias. (Menéndez et al., 2014) A enorme perda de líquidos que os doentes sofrem através dos vômitos e diarreia, pode muito provavelmente contribuir para a desidratação, desequilíbrio eletrolítico, hipotensão, e levar ao choque que ocorre posteriormente. (Bray & Chertow, 2015)

O sistema neurológico também não fica de fora, verificando-se cefaleias, confusão, podendo até inclusivamente o indivíduo ficar em coma mais tarde. (Tseng & Chan, 2015)

Por entre os sistemas que o vírus atinge encontram-se também o sistema respiratório, provocando no doente desde dores no peito e dispneia até tosse e corrimento nasal. (Galán-Huerta et al., 2014)

O sistema vascular é igualmente afetado, ocorrendo hiperemia conjuntival, hipotensão postural e edema. (Tseng & Chan, 2015)

Na fase aguda da doença, a nível ocular, as pessoas infetadas também podem sofrer de visão turva, fotofobia e cegueira, sintomas que caracterizam a uveíte. (Bray & Chertow, 2015)

As dores de garganta, soluços e dificuldade em engolir e respirar parecem ser sintomas não tão frequentes. (Passi et al., 2015)

Foram também descobertas alterações a nível do palato mole, mais precisamente, uma descoloração em tons de vermelho escuro. (Bray & Chertow, 2015)

No surto que atingiu o oeste do continente africano e que teve início no final de 2013, os sintomas iniciais que foram predominantemente registados foram a febre, em primeiro lugar, atingindo um valor de 87%, seguido de astenia com 76%, vômitos com 67%, diarreia com 65%, anorexia com 64%, cefaleias com 53%, dores abdominais com 44% e, por fim, dores musculares e articulares com 39%. (Menéndez et al., 2014) Segundo os dados disponíveis, foi também registada bradicardia. (Bray & Chertow, 2015)

As hemorragias começam a surgir na fase do culminar da doença (Feldmann & Geisbert, 2011), tendo sido observados sangramentos sem explicação em cerca de 18% das pessoas afetadas pelo surto do oeste africano. (Menéndez et al., 2014)

Apesar da doença ser anteriormente denominada de febre hemorrágica, a ocorrência de hemorragias situa-se abaixo dos 50%, podendo estas ter gravidades diferentes, daí a doença ter adquirido mais recentemente o nome de doença por vírus Ébola. (Martines et al., 2015)

À medida que a doença vai evoluindo, vai havendo perda da integridade dos vasos sanguíneos com aumento da sua permeabilidade, bem como vazamentos de sangue, uma vez que o vírus vai atacando as células endoteliais microvasculares. (Passi et al., 2015) No entanto, nos primeiros surtos não foram descritas lesões vasculares em humanos e também foram desvalorizadas nos primatas, até porque num estudo realizado em macacos, a infeção das células endoteliais verificou-se maioritariamente no fim da doença e apenas de uma forma esporádica (Feldmann & Geisbert, 2011), não tendo sido considerada um fator determinante para a ocorrência da diátese hemorrágica. (Geisbert et al., 2003)

Englobadas nas hemorragias que podem ocorrer estão então as petéquias, equimoses, hematomas, principalmente em torno dos sítios onde foram realizadas punções venosas, e foram detetadas também hemorragias viscerais. (Galán-Huerta et al., 2014) Pode igualmente existir sangramento ao nível das mucosas, aparecendo sangue nas gengivas, nariz, trato gastrointestinal e geniturinário. (Passi et al., 2015) (Figura 11)

Em cerca de 50% das pessoas (Passi et al., 2015), existem também erupções maculopapulares, que surgem 5 a 7 dias após a doença se começar a manifestar, sendo que se vão difundindo, e podem escamar. (Tseng & Chan, 2015) Estas erupções maculopapulares atingem habitualmente zonas como o rosto, o pescoço, o tronco e os braços, sendo um pouco difíceis de observar quando se trata de pessoas com peles muito escuras. (Bray & Chertow, 2015) (Figura 11)

A dor abdominal que as pessoas infetadas podem sentir pode estar relacionada com um aumento dos níveis normais de amilase no sangue, que pode advir de uma pancreatite. (Feldmann & Geisbert, 2011)

Normalmente passados dez dias, os doentes podem também apresentar alterações do estado de consciência, rigidez do pescoço e convulsões, sintomas indicativos de uma meningoencefalite. (Bray & Chertow, 2015)

As hemorragias graves geralmente apenas ocorrem no último estadio da doença. (Bray & Chertow, 2015) Os doentes podem apresentar sangue ao tossir ou vomitar e ainda sofrer uma coagulação intravascular disseminada, devido aos danos hepáticos sofridos conjuntamente com a elevada presença de vírus no sangue. (Passi et al., 2015)

Para além da enorme perda de sangue sofrida, também a falha de vários órgãos tem um papel preponderante na morte das pessoas, um desfecho que pode ocorrer em cerca de até 90% dos casos. (Passi et al., 2015) Pensa-se que a perda de sódio relatada possa também ser resultado das lesões sofridas nas glândulas supra-renais. (Menéndez et al., 2014)

À fase final da doença estão portanto associados inúmeros episódios, entre os quais se encontram as convulsões já referidas, alterações graves ao nível do metabolismo (Feldmann & Geisbert, 2011), (Meyers et al., 2015) hemorragias graves, encefalopatia, coagulação intravascular disseminada, e ainda, choque hipovolémico e falência de um sistema diversificado de órgãos (Tseng & Chan, 2015), nomeadamente com insuficiência renal e danos ao nível do fígado. (Martines et al., 2015) Em relação ao fígado, parecem existir vários graus de necrose neste órgão mas a gravidade das lesões verificadas não é crítica ao ponto de justificar a causa da morte provocada pelo vírus. (Galán-Huerta et al., 2014)

Uma vez adquirida, esta é uma das doenças mais mortais que existe. (Passi et al., 2015) No caso dos surtos registados no ano de 2014 por exemplo, a taxa de mortalidade ultrapassou os 70%. (Menéndez et al., 2014) Nos casos que resultam em morte, os hospedeiros infetados apresentam cedo os sinais e sintomas e o fim da doença ocorre geralmente entre o sexto e décimo sexto dia após a infeção. (Tseng & Chan, 2015)

Apesar de ser fatal para a maioria, existem relatos de casos de familiares de pessoas infetadas que apenas ficaram assintomáticas, num surto que ocorreu em 2000, no Gabão. (Bray & Chertow, 2015) Não se sabe porque a doença leva a uma ausência de sintomas em alguns casos raros e porque é que leva a maioria dos hospedeiros infetados a um estado de saúde grave mas pensa-se que o motivo para isto acontecer

resida numa interação, provavelmente bastante complexa, entre o vírus e o organismo onde este se encontra hospedado. (Meyers et al., 2015)

Nas situações em que os indivíduos sobreviveram, estes permaneceram febris ao longo de alguns dias mas ao fim de 6 a 11 dias, altura em que foi observada uma resposta humoral por parte do organismo, através dos anticorpos, apresentaram uma recuperação. (Feldmann & Geisbert, 2011) Foi mesmo demonstrado que uma percentagem de 40% revela melhorias mais ou menos a partir dos dez dias e que praticamente todos os que conseguem ultrapassar o décimo terceiro dia da infeção, são capazes de resistir à doença. (Menéndez et al., 2014)

No caso das mulheres infetadas que estejam grávidas, estas têm uma maior probabilidade de sofrer um aborto espontâneo e existem dados que também parecem indicar que as crianças, cujas mães foram infetadas, têm uma grande probabilidade de morrer, talvez devido ao leite fornecido pelas grávidas aquando da amamentação, ou até mesmo pelo contacto, transmitindo-lhes deste modo o vírus. (Feldmann & Geisbert, 2011)

Relativamente aos animais, leitões em que o vírus Ébola foi introduzido experimentalmente, apresentaram febre, tendo depois tido também dispneia, anorexia e letargia, enquanto que, leitões mais novos apresentaram sinais mais ligeiros a nível respiratório. (Spickler, 2014) Já em relação aos morcegos que foram infetados, não apresentaram quaisquer manifestações clínicas. (Spickler, 2014)

6.1. Dados laboratoriais

As pessoas com a doença por vírus Ébola parecem apresentar um conjunto de dados laboratoriais em comum. Entre eles, encontra-se a leucopenia, uma descida dos valores considerados de referência dos glóbulos brancos, devido a uma linfopenia, que é acompanhada de seguida por uma neutrofilia. (Galán-Huerta et al., 2014)

Ainda a nível hematológico, podem também ser observados no sangue linfócitos atípicos e trombocitopenia, sendo que por norma é entre o sexto e o oitavo dia da doença que os níveis das plaquetas assumem os valores mais baixos. (Bray & Chertow, 2015) As pessoas infetadas podem também apresentar anemia, contudo há

dados laboratoriais de outros pacientes cujos hematócritos se encontravam aumentados, não havendo deste modo uma consistência dos casos em relação à percentagem de ocupação dos glóbulos vermelhos no sangue. (Bray & Chertow, 2015) Além disso, foram também verificado um aumento dos produtos de degradação da fibrina bem como houve um aumento do tempo de protrombina e do tempo de tromboplastina parcial, o que indica distúrbios na coagulação, podendo levar por exemplo à coagulação intravascular disseminada. (Bray & Chertow, 2015)

Ao nível do fígado, foi registada uma elevação das transaminases, sendo que a aspartato aminotransferase estava mais alta do que a alanina aminotransferase. (Tseng & Chan, 2015)

A nível renal, há evidência de proteinúria e de aumento dos níveis de creatinina no sangue. (Meyers et al., 2015)

6.2. Período de convalescência

Apesar dos sobreviventes geralmente começarem a apresentar melhorias significativas ao longo da segunda semana, o período de recuperação é no entanto acompanhado por várias sintomas. (Bray & Chertow, 2015)

A recuperação após duas semanas pode incluir diversas complicações, sendo as artralguas, zumbidos, pericardite, orquite e parotidite supurativa alguns dos exemplos. (Meyers et al., 2015) É ainda de salientar que as artralguas foram observadas em cerca de 50 a 75% das pessoas que resistiram à doença. (WHO, 2016c)

No período de convalescência, que pode chegar a ter uma duração superior a dois anos, as pessoas podem ainda apresentar mielite, uveíte, psicoses, ou hepatite recorrente, sintomas tardios trazidos pela doença por vírus Ébola. (Menéndez et al., 2014)

Para além destas, existem ainda muitas outras sequelas deixadas nos sobreviventes. A nível ocular foram registadas por exemplo dor, vermelhidão, secura e fotossensibilidade. (WHO, 2016c)

Adicionalmente, mais de 25% dos sobreviventes perderam parte da sua audição, e outros ficaram com dores abdominais. (WHO, 2016c)

Acerca das sequelas a nível neurológico, segundo a WHO (2016c), “dor de cabeça, deterioração da memória, neuropatia periférica e tremor parecem ser comuns após a recuperação da EVD. Sequelas menos comuns incluem miopatia, convulsões e parkinsonismo”. (p.14)

A nível sexual, há relatos regulares de disfunção erétil, bem como de amenorreia, metrorragia/menorragia, dor pélvica, testicular e ainda dispareunia. (WHO, 2016c)

Foram ainda descritas insónias, fraqueza, fadiga, dificuldade em ganhar peso, uma vez que a doença provoca um grande emagrecimento, sendo também reportada uma descamação extensa da pele e queda de cabelo, podendo estar associadas à necrose que o vírus Ébola induz nas glândulas sudoríparas que infeta, bem como noutras estruturas dérmicas. (Bray & Chertow, 2015)

Pensa-se que enquanto os sobreviventes estiverem no período de convalescência, o vírus continue nos fluidos corporais, como a urina ou o sémen. (Bray & Chertow, 2015)

7. Diagnóstico e métodos de deteção do vírus

Quanto mais cedo for diagnosticada a doença, mais cedo se consegue intervir e mais probabilidades existem para a restringir e tentar travar o seu contágio e portanto, os testes devem oferecer resultados num curto espaço de tempo e com o máximo de precisão possível. (Meyers et al., 2015) No entanto, antes de ser feito qualquer teste de diagnóstico, tem de ser avaliado o caso, nomeadamente os sintomas, a história de exposição, se esteve ou viajou para alguma das zonas afetadas, para ver se existe realmente necessidade ou não de serem realizados testes de deteção. (Feldmann & Geisbert, 2011)

A figura 12 mostra um exemplo de um algoritmo a seguir nestas situações, sendo que neste caso o algoritmo é baseado no surto de 2014 que afetou maioritariamente a Guiné, Serra Leoa e Libéria. (Galán-Huerta et al., 2014)

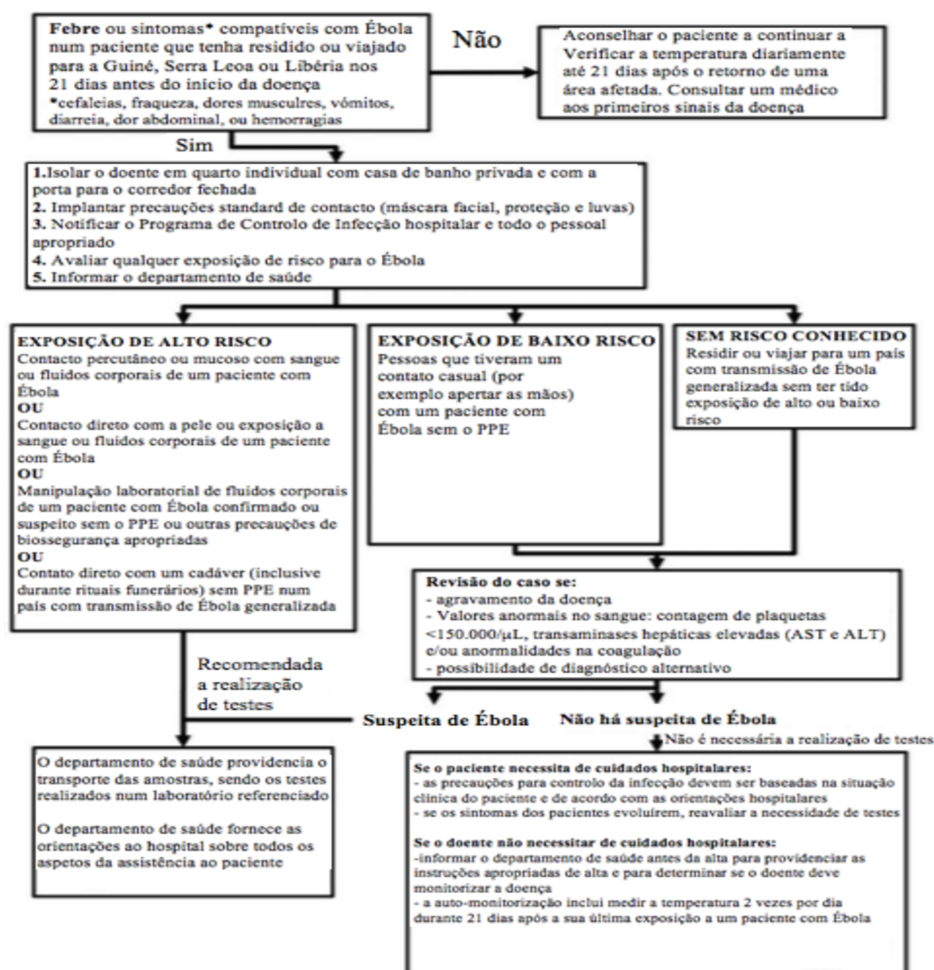


Figura 12- Procedimento de avaliação clínica de um paciente (Adaptado de (Galán-Huerta et al., 2014))

As pessoas que estiveram em contacto direto com outros doentes infetados, devem também elas ser vigiadas nos 21 dias seguintes a esse contacto e no caso de aparecimento de sintomas relacionados com o vírus, devem ser isoladas e também submetidas a testes. (CDC, 2016f)

Exames como um hemograma completo ou exames específicos acerca dos valores das enzimas hepáticas, da creatinina, pH, entre outros, podem indiciar a doença, mas os testes laboratoriais que são utilizados para confirmar o diagnóstico são outros. (Passi et al., 2015)

Os testes laboratoriais utilizados no diagnóstico confirmam a doença através da deteção do vírus ou então através da deteção da resposta imunitária desencadeada pelo hospedeiro. (Feldmann & Geisbert, 2011)

Entre os métodos de diagnóstico que podem ser utilizados encontram-se por exemplo a microscopia electrónica, a imunohistoquímica (Martines et al., 2015), a reação da transcriptase reversa seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) e o isolamento do vírus numa cultura de células, sendo que todos eles servem para detetar o vírus. (Meyers et al., 2015) O RT-PCR deteta mais propriamente o RNA viral, enquanto a imunohistoquímica permite detetar os antígenos do vírus. (Martines et al., 2015)

A microscopia electrónica tem sido muito útil, nomeadamente na identificação de novas espécies de vírus, como foi o caso do vírus Ébola Zaire e do vírus Ébola Reston. (Martines et al., 2015)

Englobados nos métodos de diagnóstico estão ainda os testes serológicos, nos quais está incluído o ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA), o qual permite a deteção de anticorpos IgG e IgM produzidos pelo hospedeiro contra a infeção provocada pelo vírus. (Galán-Huerta et al., 2014) Por outro lado, quando o objetivo é detetar antígenos virais, o teste ELISA também pode ser utilizado. (Passi et al., 2015)

O vírus apenas se consegue encontrar nas amostras de sangue infetado depois de começarem a ocorrer as manifestações clínicas da doença, e principalmente a partir da chegada mais acentuada da febre. (Martines et al., 2015) Geralmente entre o terceiro e o

sétimo dia, consegue detetar-se o antigénio, mas este período pode ir até ao décimo sexto dia. (Martines et al., 2015)

Relativamente aos anticorpos, sabe-se que a IgM é a imunoglobulina que aparece e desaparece mais cedo, sendo que esta pode ser detetada apenas dois dias depois das primeiras manifestações clínicas e permanecer no organismo entre 30 a 168 dias depois da doença. (Martines et al., 2015) Já a IgG costuma aparecer só passados 6 a 18 dias e pode continuar durante 3 a 5 anos. (Martines et al., 2015)

Geralmente se a doença está ainda num estadio inicial são usados testes como o ELISA (para antigénios ou para os anticorpos mais precoces), o RT-PCR e o isolamento do vírus de uma cultura de tecidos, uma vez que nestas alturas os testes demonstram ter a eficácia que é necessária. (Passi et al., 2015) (Tabela 4)

Tabela 4- Métodos de deteção usados de acordo com o tempo de infeção (Adaptado de (CDC, 2015d))

Tempo de infeção	Testes de diagnóstico disponíveis
Poucos dias após o início dos sintomas	-Teste ELISA para antigénios virais -Teste ELISA para IgM -PCR -Isolação do vírus
No decurso da doença ou após a recuperação	Deteção de anticorpos IgM e IgG
Em pacientes falecidos	-Imunohistoquímica -PCR -Isolação do vírus

O RT-PCR é um método que permite detetar o vírus no sangue entre o terceiro e décimo dia após o início das manifestações clínicas, sendo que também já foi detetado em certas secreções corporais vários meses depois de ter ocorrido a infeção. (Martines et al., 2015)

Pelo contrário, se a pessoa se encontra já num estadio terminal da doença ou conseguiu recuperar, são então usados os testes serológicos, que envolvem tanto a IgM como a IgG. (Passi et al., 2015) (Tabela 4)

Em relação à imunohistoquímica, apenas se pode recorrer a este método quando a pessoa já morreu, pelo que o seu uso é bastante limitativo. (Meyers et al., 2015)

Quanto ao isolamento viral, pode também ele ser utilizado nesta altura. (Meyers et al., 2015) (Tabela 4)

Os métodos mais utilizados têm sido o RT-PCR e o ELISA para um diagnóstico menos demorado. (Martines et al., 2015)

No entanto existem estudos em que se verificou que o RT-PCR apresenta uma maior precisão e especificidade do que a deteção de antigénios ou do anticorpo IgM pelo ensaio ELISA, pelo que acaba por ser o método mais usado (Meyeres et al., 2015)

Um teste de RT-PCR que dê um resultado negativo e que tenha utilizado uma amostra de sangue de uma pessoa cujos sintomas já se tenham estabelecido há pelo menos 3 dias, é logo indicativo de exclusão do diagnóstico da doença por vírus Ébola. (Bray & Chertow, 2015)

Devido à sua patogenicidade, o nível de biossegurança atribuído ao vírus Ébola foi de 4, o nível mais elevado. (Rear & Mirdha, 2014) Segundo as normas, os testes de diagnóstico devem portanto ser feitos em laboratórios indicados especificamente para o efeito, uma vez que, como já foi referido, o vírus está classificado no nível máximo, em termos de biossegurança laboratorial. (Martines et al., 2015)

No caso de Portugal, apenas o Instituto Nacional de Saúde Ricardo Jorge está autorizado a realizar testes de diagnóstico. (Orientação DGS, 2015a)

Quando se trata de febres hemorrágicas virais, o diagnóstico laboratorial deve ser realizado, por norma, em centros de referência nacionais e internacionais, sendo que em caso de suspeita, estes centros devem ser contactados imediatamente para prestarem aconselhamento sobre a amostragem, bem como sobre a preparação da amostra e seu respetivo transporte. (Feldmann & Geisbert, 2011)

Por exemplo, nos Estados Unidos, em caso de existir a suspeita de uma pessoa infetada, deve contactar-se o Center For Diseases Control and Prevention e também o departamento de saúde mais próximo, seja local ou estatal, para que estes informem acerca de quais os procedimentos a ter na recolha e transporte das amostras até ao laboratório de referência, onde são então realizados os testes de diagnóstico. (Meyers et al., 2015)

Portanto, antes de se realizarem os testes de diagnóstico existem determinados procedimentos relativos à recolha e transporte das amostras que têm de ser seguidos. Em relação à recolha, existem orientações que explicam detalhadamente que esta deve ser realizada em tubos de plástico com EDTA no seu interior e que a quantidade mínima de sangue são 4 mL. (Meyers et al., 2015) O seu respetivo armazenamento e transporte deve ser feito em bolsas que mantenham a temperatura estável, entre os 2 e os 8 graus, para que a amostra esteja nas condições necessárias para ser utilizada posteriormente, por exemplo no teste do RT-PCR. (Meyers et al., 2015)

No entanto, para os testes de deteção de antígenos em que se usa a imunohistoquímica, o transporte das amostras das biópsias que estão fixadas em formaldeído não requer condições específicas de armazenamento e transporte nem quaisquer cuidados na recolha, uma vez que não existe perigo de transmissão. (Martines et al., 2015)

É também de salientar que foram aprovados sete testes de diagnóstico *in vitro* para poderem ser utilizados em situações de emergência e são eles:

- OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test Kit (Cadaveric Oral fluid and Whole Blood);
- RealStar® Filovirus Screen RT-PCR Kit 1.0;
- Antigen Rapid Test Kit, ReEBOV™;
- Liferiver™ Ebola Virus (EBOV) Real Time RT-PCR Kit;
- Xpert® Ebola Test;
- FilmArray™ Biothreat-E;
- SD Q Line Ebola Zaire Ag. (WHO, 2016d)

O teste OraQuick é um ensaio imunocromatográfico que consiste na deteção da presença do antígeno VP40 do vírus no sangue e cujo resultado tem de ser posteriormente confirmado por testes de ácidos nucleicos que tenham sido previamente

autorizados, como por exemplo, o RT-PCR. (WHO, 2016e) A deteção do vírus Ébola Zaire também é possível pela recolha de fluido oral de pessoas mortas, sendo que deve igualmente existir confirmação dos resultados. (WHO, 2016e) No entanto, é de salientar que caso o resultado do teste OraQuick seja negativo, não significa obrigatoriamente que o indivíduo não possui a doença por vírus Ébola. (WHO, 2016e)

Por sua vez, o teste RealStar serve-se do RT-PCR para conseguir detetar a presença de RNA viral no plasma e deteta tanto as 5 espécies do vírus Ébola como o vírus Marburg. (World Health Organization, 2014)

O teste ReEBOV, segue os mesmos princípios do teste OraQuick, sendo que podem ser utilizadas amostras de sangue, soro ou plasma e os resultados têm também de ser confirmados. (WHO, 2015b)

O teste Liferiver, à semelhança do RealStar, baseia-se no RT-PCR, e serve para detetar todas as espécies do vírus Ébola, com exceção do vírus Ébola Reston, no soro, plasma e sangue. (WHO, 2015c)

Relativamente ao teste Xpert, este usa também o RT-PCR e deteta a presença do RNA viral (Ébola Zaire). (WHO, 2016f)

O teste FilmArray consiste da deteção do RNA do vírus Ébola Zaire através da análise ao sangue ou à urina (não diluída) e sangue. (WHO, 2015d)

7.1. Desinfecção

Para que a amostra não seja infecciosa, pode também ser feita previamente a inativação do vírus, tornando assim possível a manipulação do material de uma forma segura, mesmo estando fora do laboratório de contenção. (Galán-Huerta et al., 2014)

No caso de se proceder a testes que envolvam detetar a presença de anticorpos ou antigénios, pode inativar-se o vírus por exemplo através de radiação gama proveniente de uma fonte de cobalto-60 ou então a inativação também pode ocorrer através do calor. (Feldmann & Geisbert, 2011) Quando se trata de testes que envolvam

a detecção de ácidos nucleicos, a amostra pode ser inativada através de uma substância designada isotiocianato de guanidina. (Feldmann & Geisbert, 2011)

O vírus Ébola apresenta ainda sensibilidade a agentes químicos como o hipoclorito de sódio, de cálcio, glutaraldeído, formaldeído, propiolactona β , ácido acético a 3% e ácido peracético, metanol, etanol a 70% e éter. (Spickler, 2014) A inativação pode também ser efetuada através de agentes físicos, que para além da radiação gama, incluem também a radiação ultravioleta, aquecimento à temperatura de 60 graus durante uma hora ou ainda fervura durante 5 minutos. (DGS; 2014b)

Pelo contrário, a inativação do vírus não pode ser realizada através de refrigeração ou congelação. (Rear & Mirdha, 2014)

8. Tratamento

Até ao momento, não está disponível qualquer tratamento para a doença por vírus Ébola, sendo que apenas são realizadas medidas de suporte às pessoas que contraíram a infecção e tratamento dos sintomas que se vão manifestando ao longo do tempo. (WHO, 2016b)

As medidas de suporte passam fundamentalmente por hidratar o doente, através da administração de fluidos, seja por via oral ou intravenosa, e de eletrólitos, passando também pela manutenção dos níveis de oxigénio e da pressão arterial, bem como pelo tratamento de outras infeções que eventualmente possam surgir. (CDC, 2015c) É de salientar que apesar de serem medidas relativamente simples, estas podem desempenhar um papel muito importante pois podem diminuir bastante a probabilidade de morte destas pessoas se a intervenção for realizada com a devida antecedência. (CDC, 2015c)

Apesar de não existir nenhum tratamento até à data, a investigação não tem estado estagnada. Várias terapêuticas foram já testadas, embora algumas se tenham revelado ineficazes e os testes a outras não tenham conseguido ficar devidamente concluídos, mas há no entanto terapêuticas ainda a ser consideradas para se iniciarem ensaios clínicos. (WHO, 2015e)

Um dos medicamentos testados foi o favipiravir, que tem a capacidade de conseguir impedir que alguns vírus que são compostos por RNA se repliquem, através do bloqueio da atividade da enzima RNA polimerase. (Lai et al., 2014) Este medicamento foi testado em ensaios pré-clínicos, onde mostrou até alguma eficácia em ratos e primatas não humanos. (WHO, 2015e)

Infelizmente, quando se avançou para os ensaios clínicos em humanos na Guiné para estabelecer a sua segurança e eficácia, que ocorreram entre Dezembro de 2014 e Abril de 2015, concluiu-se que este medicamento não é tão benéfico como se pretendia, principalmente em pessoas com uma virémia muito alta, tendo ocorrido 60 mortes, numa amostra de 111 pessoas. (Sissoko et al., 2016) De qualquer das formas, este estudo não permitiu tirar conclusões esclarecedoras acerca da sua eficácia, pelo que mais estudos seriam necessários. (Sissoko et al., 2016)

Outro medicamento testado foi o Zmapp, que é um medicamento que contém uma mistura de 3 anticorpos monoclonais que advêm das plantas de tabaco, sendo o seu principal objetivo impedir o avanço do vírus. (Mapp Biopharmaceutical, 2015) O Zmapp é um medicamento que tem como alvo a GP1, sendo capaz de inibir as ligações que o vírus estabelece com a célula hospedeira, impedindo deste modo a proliferação viral. (Vuillet-a-Ciles, Rogez & Buxeraud, 2015; (National Institute of Allergy and Infectious Diseases, 2015)

Nos ensaios pré-clínicos já tinha revelado ser promissor, uma vez que conseguiu fazer com que nos casos em que o medicamento tinha sido dado até 5 dias depois de contraírem a infecção, todos os macacos rhesus recuperassem. (Qiu et al., 2014)

O Zmapp chegou mesmo a ser usado em humanos, mesmo antes de ser comprovada a sua eficácia e segurança em ensaios clínicos, devido a situações de emergência. (NIAID, 2015)

No entanto, quando em 2015 o Zmapp foi submetido a esses ensaios clínicos em 72 pessoas na Libéria, Serra Leoa, Guiné e Estados Unidos (National Institute of Allergy and Infectious Diseases, 2016), os resultados apresentados por este medicamento parecem não ter sido suficientes, tendo sido considerados inconclusivos. (WHO, 2016g) Isto porque era necessário o ensaio ser composto por uma amostra de doentes muito maior, cerca de 200, o que não foi de todo possível uma vez que a epidemia começou a estagnar. (NIAID, 2016) Além disso, apesar do Zmapp ter sido bem tolerado, os ensaios tinham como objetivo verificar se este tratamento juntamente com as medidas de suporte básicas iria diminuir o número de mortes entre os doentes em comparação com as medidas de suporte sozinhas e os resultados revelaram que a diferença das taxas de mortalidade entre as duas situações era pouco significativa, apesar desta taxa ter sido menor no grupo de pacientes que recebeu o Zmapp. (NIAID, 2016)

Também foi tentada a utilização de transfusões de sangue de sobreviventes, mais precisamente de plasma convalescente, que seria composto por anticorpos neutralizantes, de modo a conferir imunidade passiva a quem recebesse essas transfusões. (Lai et al., 2014; Griensven et al., 2016)

Os ensaios clínicos para comprovar a segurança e eficácia deste tratamento foram levados a cabo na Guiné, onde ocorreram entre Fevereiro e Agosto de 2015. (Griensven et al., 2016)

É de salientar que antes das transfusões serem efetuadas, o nível de anticorpos presentes no plasma era desconhecido. (Griensven et al., 2016)

A conclusão a que se chegou após a realização destes ensaios foi que apesar de não terem ocorrido reações adversas severas na maioria das pessoas que foram sujeitas às transfusões, também não foi registada uma diferença substancial na taxa de sobrevivência entre as pessoas sujeitas e não sujeitas ao tratamento com o plasma convalescente. (Griensven et al., 2016) Na verdade, a probabilidade de morrer foi apenas 20% mais baixa nas pessoas que receberam as transfusões, tendo esta discrepância de valores sido considerada pouco relevante. (Griensven et al., 2016)

Outro tratamento submetido a ensaios clínicos foi o TKM-130803, que é composto por nanopartículas lipídicas de pequenos RNAs interferentes (Dunning et al., 2016), que são basicamente pequenas sequências de RNA que têm a capacidade de clivar o RNA do vírus, fazendo com que deste modo ele não se consiga multiplicar. (WHO, 2015f) Este tratamento é uma nova formulação do TKM-100802, que tinha como alvos a RNA polimerase e a VP35, proteínas virais envolvidas na transcrição e replicação do vírus, além da VP35 estar ainda envolvida na supressão da resposta imunitária. (Dunning et al., 2016) A diferença é que esta nova formulação sofreu alterações em alguns nucleótidos para se tornar mais específico ao vírus responsável pelo surto do oeste de África. (Dunning et al., 2016) O TKM-100802 tinha sido já usado em 2014, em 2 pessoas infetadas, que acabaram por sobreviver, sem ficar com sequelas graves, mas o mérito deste tratamento ficou por esclarecer, não só pelas condições limitadas em que foi usado mas também porque envolvia simultaneamente o plasma convalescente e os cuidados básicos de suporte. (Kraft et al., 2015) Além disso, foi ainda sujeito a ensaios clínicos de fase 1 em 2015. (WHO, 2015f)

Uma vez que esta tecnologia tinha já demonstrado muito bons resultados em primatas não humanos (Dunning et al., 2016), o medicamento TKM-130803 acabou por receber destaque da Organização Mundial de Saúde para serem efetuados ensaios clínicos, mas também ele acabou por se revelar pouco útil para os doentes. (WHO,

2016g) Isto porque, no decorrer da segunda fase dos ensaios clínicos, em 2015, este tratamento que foi administrado por via intravenosa, apenas em adultos, não mostrou aumentar a sobrevivência das pessoas do estudo, que na sua maioria se encontravam em estado grave, comparativamente com os números de sobrevivência já existentes da doença. (Dunning et al., 2016)

Um dos vários medicamentos que tinham também sido priorizados pela Organização Mundial de Saúde em 2015 foi por exemplo o MIL-77, que é uma mistura de anticorpos monoclonais produzidos em células do ovário de hamsters chineses e que nos ensaios pré-clínicos mostrou ter uma eficácia semelhante ao Zmapp em alguns primatas não humanos, tendo passado pela fase I dos ensaios clínicos. (WHO, 2015f)

O AVI-7537, um oligonucleótido de RNA antisense, que não permite que o vírus se replique através do ataque à VP24, e que em primatas não humanos demonstrou aumentar a probabilidade de sobreviver em cerca de 50 a 60%, teve também a atenção da Organização Mundial da Saúde. (WHO, 2015e) No entanto, este medicamento não chegou a começar a fase I dos ensaios clínicos. (ClinicalTrials.gov, 2013)

Outro medicamento priorizado foi o BCX-4430, que é um análogo da adenosina capaz de bloquear a RNA polimerase, interferindo assim na transcrição e replicação do vírus. (BioCryst Pharmaceuticals, 2016) Este é um medicamento que completou a fase I dos ensaios clínicos. (ClinicalTrials.gov, 2016)

Inicialmente o medicamento antivírico brincidofovir foi também considerado como uma possibilidade de tratamento da doença por vírus Ébola. (Médicos Sem Fronteiras, 2015) Este medicamento está envolvido por exemplo no tratamento de patologias desencadeadas pelo citomegalovírus, uma vez que consegue bloquear a replicação de vírus compostos por DNA. (Vuillet-a-Ciles et al., 2015) Apesar do vírus Ébola ser composto por RNA, haveriam indícios que o medicamento também teria benefícios terapêuticos in vitro na doença provocada por este vírus. (Vuillet-a-Ciles et al., 2015) No entanto, os testes clínicos foram descontinuados devido à diminuição da incidência da doença e conseqüente falta de doentes para o avanço dos ensaios. (Médicos Sem Fronteiras, 2015)

Medicamentos não tão importantes foram por exemplo a azitromicina, que chegou também a ser testada em ensaios pré-clínicos mas este antibiótico apenas

apresentou uma taxa de sobrevivência entre os zero e os seis por cento em porquinhos da índia, as chamadas cobaias. (WHO, 2015e)

A amodiaquina, um anti-malárico que não demonstrou quaisquer vantagens no tratamento da doença por vírus Ébola em ratos foi ainda assim priorizada pela Organização Mundial de Saúde, tendo sido levados a cabo testes em primatas não humanos com o intuito de se saber mais informações acerca do seu contributo na doença. (WHO, 2015e) Isto porque em alguns centros de tratamento do vírus Ébola, a administração deste medicamento ao invés da lumefantrina que estava a ser administrada, parece estar relacionada com uma diminuição substancial das mortes aí ocorridas. (WHO, 2015e)

9. Prevenção

A prevenção é fulcral tanto para evitar o contágio individual da pessoa como para evitar a disseminação da doença, sendo que esta prevenção pode então ser realizada através de várias medidas, quer pela população em geral, quer pelos profissionais de saúde.

A nível individual, as principais medidas básicas que uma pessoa deve seguir em caso de estar perto de pessoas infetadas com o vírus seja porque vive, trabalha ou viajou para um dos locais afetados é, por exemplo, evitar o contacto direto com os doentes, vivos ou mortos e com animais, bem como com objetos que possam conter vestígios dos seus fluidos, uma vez que o vírus pode ficar ativo em objetos e superfícies num período de tempo que pode chegar a vários dias. (DGS, 2014b) Além disto, deve ainda proceder à lavagem das mãos com frequência, acompanhando esta higienização com produtos como sabão ou antissépticos, assim como é aconselhável cozinhar bem a comida. (DGS, 2014c) Em caso de viagem, é também muito importante que no regresso haja uma atenção redobrada no estado de saúde ao longo de 21 dias, que corresponde ao período em que os sintomas surgem, em caso de doença. (DGS, 2014c)

Em relação aos profissionais de saúde, para além de se protegerem a si próprios, têm também a obrigação de zelar pela saúde dos outros, existindo para isso medidas de contenção no caso de lidarem com pessoas que possuem a doença por vírus Ébola.

Os procedimentos a ter pelos profissionais de saúde nos casos de suspeita ou confirmação da doença é isolar a pessoa de todas as outras, com pelo menos 2 metros de distância (DGS, 2014b), sendo que a pessoa deve ficar numa área individual com casa de banho anexada ao quarto, de uso exclusivo para esse doente, ou numa sala de pressão negativa (Tseng & Chan, 2015), sendo que a porta deve estar habitualmente fechada. (Meyers et al., 2015)

A figura 13 mostra uma unidade especial que existe nos Estados Unidos e que serve para isolar pessoas com a doença por vírus Ébola, bem como outras doenças infecciosas em que a possibilidade de transmissão é muito grande, sendo que este isolamento é manifestamente superior ao existente na maioria dos hospitais. (Stephens et al., 2015)

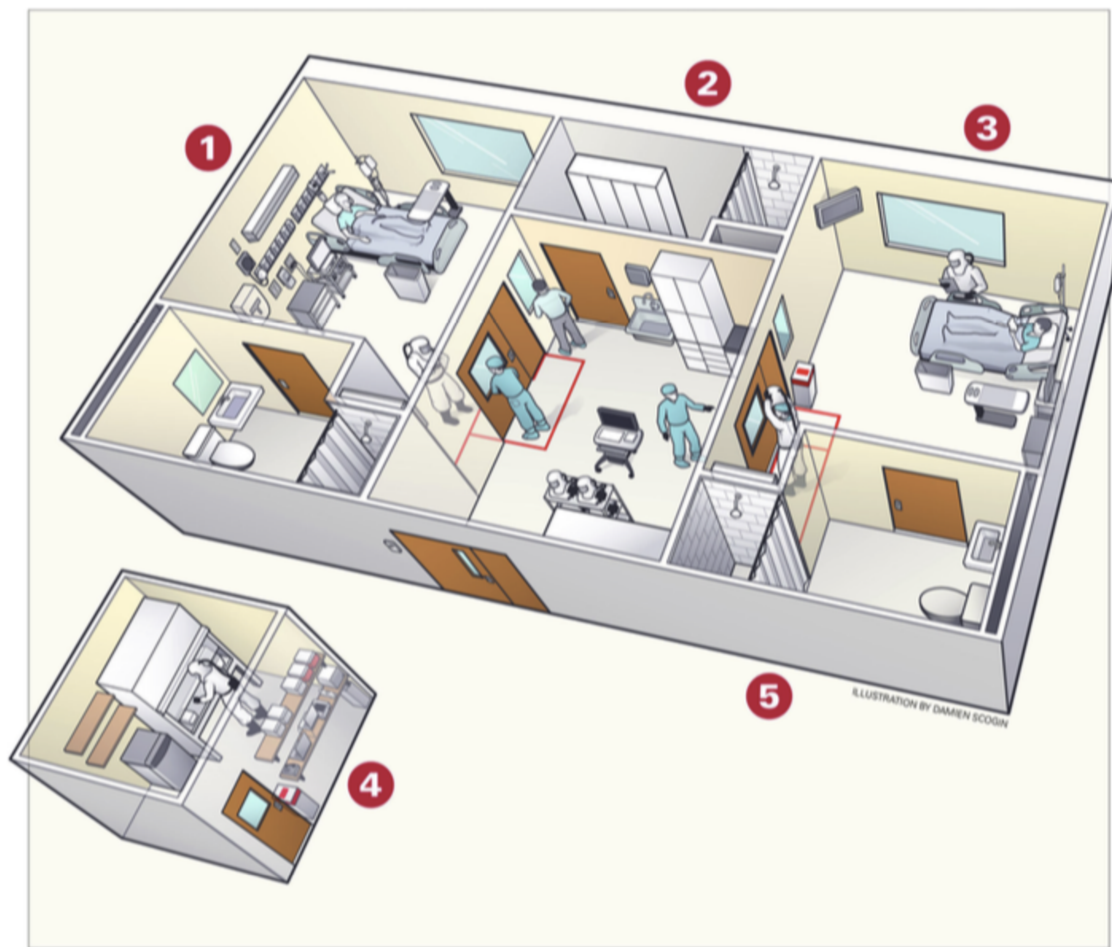


Figura 13- Representação de uma unidade especial de isolamento de doenças com elevada probabilidade de transmissão. Esta unidade é composta por quarto e casa de banho à parte (1), zona de mudança de roupa (PPE) (2), com janelas de vidro que permitem observar o que se passa no interior do quarto e através das quais é também possível o doente e os seus respectivos familiares comunicarem (3) e um laboratório para realizar os testes que forem permitidos em caso de ser preciso (4). Os resíduos líquidos são alvo de desinfeção, assim como os resíduos descartáveis são sujeitos a autoclave e incineração (5). (Adaptado de (Stephens, et al., 2015))

Outra medida muito importante é fornecer máscaras cirúrgicas a todas as pessoas suspeitas. (DGS, 2014) Se no prazo de 2 dias se obtiverem 2 resultados negativos para a doença por vírus Ébola, o isolamento da pessoa deixa então de ser necessário. (Tseng & Chan, 2015)

Existem ainda outras medidas de prevenção a ter em conta, nomeadamente cumprir as normas de assépsia e esterilização apropriadas. (CDC, 2015e)

É também importante referir que nos hospitais referenciados para receber doentes com Ébola, que são eles o Hospital de S. João, o Hospital Curry Cabral e o Hospital de D. Estefânia (DGS, 2014b), a descontaminação dos quartos e restantes sítios onde os doentes confirmados ficaram, deve ser levada a cabo por pessoas preparadas para o efeito, seguindo sempre as normas existentes e também de acordo com o Grupo de Coordenação Local do Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos. (Orientação DGS, 2015b) Nestes casos, os produtos geralmente utilizados na desinfeção são o etanol a 70% e a lixívia, que é a mais aconselhada, e cuja percentagem utilizada pode ser de 1 ou 10% de acordo com a situação e com o material a desinfetar. (Orientação DGS, 2015b)

Para se protegerem a si próprios, todos os profissionais de saúde em caso de estarem em contacto direto com uma pessoa suspeita ou confirmada de ter o vírus ou em contacto direto com os seus fluidos, devem estar devidamente equipadas com o PPE, que engloba o equipamento mencionado na tabela 5. (Orientação DGS, 2015c) Além disso, devem usar preferencialmente agulhas de segurança no caso de ser necessário realizar punções venosas ou procedimentos semelhantes, para evitar contaminações. (Tseng & Chan, 2015)

Tabela 5- Descrição do PPE contra o vírus Ébola (retirado de (Orientação DGS, 2015c))

Equipamento	Características	Observações
Fato de bloco operatório	<ul style="list-style-type: none"> Composto por calças e túnica 	
Fato de proteção integral	<ul style="list-style-type: none"> Uso único Impermeável Com capuz incorporado e costuras rematadas e cobertas Proteção biológica de categoria III tipo 3B cumprindo as exigências da EN 14126:2003 e proteção contra líquidos químicos de acordo com EN 14605:2005+A1:2009 	<p>O tamanho do fato deve ser ajustado a cada profissional.</p> <p>Tem que proteger completamente o pescoço.</p>
Bata	<ul style="list-style-type: none"> Uso único Resistente a fluidos Abertura atrás Punhos ajustados ou com elásticos Comprimento até meio das pernas ou tornozelos, sem nunca tocar no chão 	
Cogula	<ul style="list-style-type: none"> Uso único Resistente a fluidos 	
Touca	<ul style="list-style-type: none"> Uso único (tipo cirúrgica) Que cubra toda a cabeça incluindo o pavilhão auricular 	
Proteção respiratória	<ul style="list-style-type: none"> Máscara de proteção FFP2 ou FFP3 sem válvula (ou com válvula protegida) de acordo com a EN 149:2001 (ou equivalente) Uso único Resistente a fluidos 	<p>A colocação da máscara de proteção, bem como da proteção ocular, devem garantir a adequada proteção e selagem facial do profissional.</p> <p>Recomenda-se especial</p>

Equipamento	Características	Observações
		atenção à correta adaptação e selagem nos profissionais com barba. Devem ser seguidas as indicações do fabricante.
Óculos de proteção	<ul style="list-style-type: none"> • Requisitos de acordo com a EN 166:2002 • Lentes resistentes a impactos • Com ajuste total à cara e anti embaciamento • Com proteção lateral • Com ventiladores anti projeção 	
Viseira de proteção facial total	<ul style="list-style-type: none"> • Requisitos de acordo com a EN 166:2002 • Uso único • Com comprimento mínimo de 24 cm e 30 cm de largura 	Tem de proteger toda a face e pescoço. Fácil de tirar em caso de exposição acidental.
Luvas	<ul style="list-style-type: none"> • Uso único • Impermeáveis • Pontas dos dedos texturizadas • Com proteção biológica e química, com nível de proteção de acordo com EN 374-2 e EN 374-3, respetivamente • Dois tipos de luvas <ul style="list-style-type: none"> ○ Primeiro par de nitrilo (300 mm) ○ Dependendo do procedimento a realizar, segundo par de: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Nitrilo ou latex, que cubra com uma boa margem o punho do fato ou bata ▪ Nitrilo ou PVC³ que cubra o braço até ao cotovelo 	Devem ser utilizadas luvas de cores diferentes para melhor distinção entre os pares de luvas.
Calçado de uso exclusivo do local de trabalho	<ul style="list-style-type: none"> • Sapato ou soca fechada e impermeável • Botas de borracha³ impermeáveis e antiderrapantes 	Sem orifícios e que minimize o risco em caso de exposição acidental com corto-perfurantes.
Proteção de calçado	Cobre-botas <ul style="list-style-type: none"> • Uso único • Resistente a fluidos • Com cano elevado até ao nível do joelho 	

9.1. Vacinas

Uma grande medida capaz de proteger contra a doença por vírus Ébola é sem dúvida a vacinação, apesar de atualmente ainda não existir nenhuma vacina disponível. (WHO, 2016b)

No entanto, estão a ser investigadas diversas vacinas, sendo que existem duas vacinas recombinantes que são consideradas as mais fortes candidatas. (WHO, 2016b)

Uma das vacinas referidas é composta pelo adenovírus tipo 3 de um chimpanzé (ChAd3), cujo vírus foi modificado geneticamente para expressar a proteína GP do vírus Ébola (Zaire). (GlaxoSmithKline, 2015) O que se pretendia com esta vacina era

impulsionar a resposta do sistema imunitário de quem contraísse o vírus, através dos anticorpos e das células T CD8, sendo que nos ensaios pré-clínicos, esta vacina demonstrou muito bons resultados em primatas não humanos, uma vez que lhes foi administrada uma dose e passadas 5 semanas, foi observada uma proteção contra a doença por vírus Ébola de 100% nestes animais. (GSK, 2015)

Em 2014, iniciaram-se então os ensaios clínicos de fase 1, os quais constataram que a vacina era segura e que apresentava uma boa tolerância no Homem. (WHO, 2015f) Dado os resultados animadores da fase 1, a vacina proseguiu então com a investigação, tendo iniciado a fase 2 em 2015 na Nigéria, Mali, Senegal, Ghana e Camerão. (WHO, 2015f)

Relativamente à outra vacina, é composta por um vírus da estomatite vesicular (VSV), que à semelhança da vacina ChAd3-ZEBOV, foi geneticamente modificado para expressar a glicoproteína de superfície do vírus Ébola. (Henao-Restrepo et al., 2015)

Nos estudos pré-clínicos realizados, esta vacina VSV-EBOV mostrou ser segura para os primatas não humanos submetidos à imunização, uma vez que não foi observada qualquer toxicidade provocada pela vacina numa amostra de cerca de 80 animais. (Agnandji et al., 2016) Além disso, mesmo tendo sido sujeitos a uma quantidade supostamente mortal do vírus Ébola Zaire, estes animais parecem ter conseguido ficar protegidos contra o vírus apenas com uma vacina. (Agnandji et al., 2016)

Procedeu-se então à primeira fase dos ensaios clínicos em 2014, cujos resultados para além de terem confirmado a segurança da vacina nas pessoas que participaram e a sua boa tolerabilidade, tal como aconteceu com a vacina ChAd3-ZEBOV (WHO, 2015f), mostraram também que a vacina conseguiu fazer com que todas essas pessoas tivessem produzido anticorpos contra a doença, independentemente da dose que lhes tinha sido administrada. (Agnandji et al., 2016)

Em 2015, a vacina VSV-EBOV foi também submetida a ensaios clínicos de fase 3 na Serra Leoa e Guiné (WHO, 2015f), sendo que do ensaio realizado na Guiné que tinha sido iniciado em Março desse ano, foram já divulgadas informações que dão conta da grande eficácia da vacina. (WHO, 2016h)

Além disso, o National Institutes of Health anunciou ainda em 2015 a abertura de um ensaio de fase 2/3 na Libéria que envolvia as duas vacinas, com o objetivo de avaliar a sua eficácia e segurança. (National Institute of Health, 2015)

10. Conclusão

Ao longo dos anos foram várias as espécies que foram surgindo do vírus Ébola, umas mais patogénicas para o Homem e outras menos, sendo que a que se destacou e assumiu maior relevância nos surtos foi o vírus Ébola Zaire, que passou a tomar a designação de vírus Ébola.

Um vírus que até à cerca de 40 anos era desconhecido, foi capaz de provocar a morte de milhares de pessoas e gerar outros tantos casos nestes últimos anos. Este facto serve de alerta para novos vírus que possam surgir, que apesar de inicialmente poderem parecer não representar um grande perigo para a saúde pública, nunca devem no entanto ser desvalorizados nem passar despercebidos às áreas competentes.

O mecanismo de ação do vírus Ébola passa pela supressão da resposta do sistema imunitário, bem como pela indução de uma resposta inflamatória desregulada por parte do hospedeiro, replicando-se e disseminando-se de uma forma muito rápida e extensa, sendo capaz de originar um quadro clínico grave, onde estão englobadas hemorragias, múltipla falhas de órgãos e choque séptico.

Esta é uma doença cuja probabilidade de morte é bastante elevada e cuja transmissão pode ocorrer muito facilmente se não existirem os cuidados necessários.

Por isso mesmo, saber quais as medidas de prevenção que devemos ter é da mais extrema importância para evitar a propagação desta doença provocada pelo vírus Ébola.

Não existem ainda tratamentos ou vacinas para combater a infeção pelo vírus Ébola, apesar da investigação continuar em desenvolvimento.

É ainda importante salientar que existe uma grande complexidade relativamente às interações do vírus com os receptores do hospedeiro, que têm um papel fundamental no tropismo viral, pelo que esta é uma área que continua também a ser investigada.

11. Bibliografia

- Adu-Gyamfi, E., Soni, S. P., Jee, C. S., Digman, M. A., Gratton, E., & Stahelin, R. V. (2014). A loop region in the N-terminal domain of ebola virus VP40 is important in viral assembly, Budding, and egress. *Viruses*, 6(10), 3837–3854. Doi: 10.3390/v6103837
- Agnandji, S. T., Huttner, A., Zinser, M. E., Njuguna, P., Dahlke, C., Fernandes, J. F., ... Siegrist, C.-A. (2016). Phase 1 Trials of rVSV Ebola Vaccine in Africa and Europe — Preliminary Report. *New England Journal of Medicine*, 347, 1647–60. Doi: 10.1056/NEJMoa1502924
- BioCryst Pharmaceuticals. (2016). *BCX4430*. Disponível em: http://www.biocryst.com/bcx_4430
- Berrueta, T. U. (2015). *Virus de Ebola*. Universidad Nacional Autónoma de México. Disponível em: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/virologia/virus-ebola-marburg.html>
- Biedenkopf, N., Lier, C., & Becker, S. (2016). Dynamic Phosphorylation of VP30 is essential for Ebola virus life cycle. *Journal of Virology*, 90(10), 4914-4925. Doi: 10.1128/JVI.03257-15
- Bornholdt, Z. A., Ndungo, E., Fusco, M. L., Bale, S., Flyak, A. I., Crowe, J. E., ... Sapphire, E. O. (2016). Host-primed Ebola virus GP exposes a hydrophobic NPC1 receptor-binding pocket, revealing a target for broadly neutralizing antibodies. *mBio*, 7(1), 1–11. Doi: 10.1128/mBio.02154-15
- Bray, M., & Chertow, D. S. (12 de Novembro de 2015). Clinical manifestations and diagnosis of Ebola virus disease. *UpToDate*. Disponível em: <http://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-and-diagnosis-of-ebola-virus-disease>
- Bray, M., & Chertow, D. S. (21 de Janeiro de 2016). Epidemiology and pathogenesis of Ebola virus disease. *UpToDate*. Disponível em:

11. Bibliografia

<http://www.uptodate.com/contents/epidemiology-and-pathogenesis-of-ebola-virus-disease>

Cardy, P. (3 de Agosto de 2014). Ebola virus: British aid worker's diary reveals horror as SIX nurses die from killer bug. *Mirror*. Disponível em: <http://www.mirror.co.uk/news/uk-news/ebola-virus-british-aid-workers-3956692>

Centers for Disease Control and Prevention. (s.d.). *Ebola Basics*. Disponível em: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/pdf/infographics-ebola-basics.pdf>

Centers for Disease Control and Prevention. (2014a). *Ebola Outbreak-2014*. Disponível em: <http://www.cdc.gov/media/dpk/2014/images/ebola-outbreak/img8.jpg>

Centers for Disease Control and Prevention. (2014c). *Ebola Virus Disease Distribution Map*. Disponível em: <https://www.cdc.gov/vhf/ebola/outbreaks/history/distribution-map.html>

Centers for Disease Control and Prevention. (7 de Abril de 2014b). *Filoviridae*. Disponível em: <http://www.cdc.gov/vhf/virus-families/filoviridae.html>

Centers for Disease Control and Prevention. (15 de Abril de 2015d). *Diagnosis*. Disponível em: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/diagnosis/index.html>

Centers for Disease Control and Prevention. (22 de Julho de 2015a). *Transmission*. Disponível em: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/transmission/index.html>

Centers for Disease Control and Prevention. (22 de Julho de 2015c). *Treatment*. Disponível em: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/treatment/index.html>

Centers for Disease Control and Prevention. (22 de Julho de 2015e). *Prevention*. Disponível em: <https://www.cdc.gov/vhf/ebola/prevention/index.html>

Centers for Disease Control and Prevention. (24 de Novembro de 2015b). *Q&As on Transmission*. Disponível em: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/transmission/qas.html>

Centers for Disease Control and Prevention. (7 de Janeiro de 2016d). Virus Ecology Graphic. Disponível em: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/resources/virus-ecology.html>

Centers for Disease Control and Prevention. (12 de Janeiro de 2016f). *What is contact tracing?*. Disponível em: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/pdf/contact-tracing.pdf>

Centers for Disease Control and Prevention. (18 de Fevereiro de 2016c). *About Ebola Virus Disease*. Disponível em: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/about.html>

Centers for Disease Control and Prevention. (14 de Abril de 2016a). *Outbreaks Chronology: Ebola virus Disease*. Disponível em: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/outbreaks/history/chronology.html>

Centers for Disease Control and Prevention. (14 de Abril de 2016b). *2014 Ebola Outbreak in West Africa - Case Counts*. Disponível em: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/outbreaks/2014-west-africa/case-counts.html>

Centers for Disease Control and Prevention. (10 de Junho de 2016e). *Guidance for Screening and Caring for Pregnant Women with Ebola Virus Disease for Healthcare Providers in U.S. Hospitals*. Disponível em: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/healthcare-us/hospitals/pregnant-women.html>

Choi, J. H., Croyle, M. A. (2013). Emerging Targets and Novel Approaches to Ebola Virus Prophylaxis and Treatment. *Biodrugs*, 27(6), 1-30. Doi: 10.1007/s40259-013-0046-1

ClinicalTrials.gov. (23 de Janeiro de 2013). *A Study to Assess the Safety, Tolerability and Pharmacokinetics of AVI-7537 in Healthy Adult Volunteers*. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01593072?term=AVI-7537&rank=1>

ClinicalTrials.gov. (6 de Julho de 2016). *A Phase 1 Study to Evaluate the Safety, Tolerability and Pharmacokinetics of BCX4430*. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02319772?term=BCX-4430&rank=1>

Dahlmann, F., Biedenkopf, N., Babler, A., Jähnen-Dechent, W., Karsten, C. B., Gnirß, K., ... Hofmann-Winkler, H. (2015). Analysis of Ebola Virus Entry into

- Macrophages. *Journal of Infectious Diseases*, 212(Suppl 2), S247–S257. Doi: 10.1093/infdis/jiv140
- Direção-Geral da Saúde. (2014a). *Ébola. O que é?*. Disponível em: <http://www.ebola.dgs.pt/o-que-e-o-ebola.aspx>
- Direção-Geral da Saúde. (2014b). *Perguntas e Respostas*. Disponível em: <http://www.ebola.dgs.pt/perguntas-respostas.aspx>
- Direção-Geral da Saúde. (2014c). *Devo Viajar?*. Disponível em: <http://www.ebola.dgs.pt/devo-viajar.aspx>
- Dunning, J., Sahr, F., Rojek, A., Gannon, F., Carson, G., Idriss, B., ... Horby, P. W. (2016). Experimental Treatment of Ebola Virus Disease with TKM-130803: A Single-Arm Phase 2 Clinical Trial. *PLoS Medicine*, 13(4), 1–19. Doi: 10.1371/journal.pmed.1001997
- Dziubańska, P. J., Derewenda, U., Ellena, J. F., Engel, D. A., & Derewenda, Z. S. (2014). The structure of the C-terminal domain of the Zaire ebolavirus nucleoprotein. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*, 70(9), 2420–2429. Doi: 10.1107/S1399004714014710
- ExpASy: SIB Bioinformatics Resource Portal. (2014a) *Ebolavirus, Molecular biology*. Disponível em: http://viralzone.expasy.org/all_by_species/207.html
- ExpASy: SIB Bioinformatics Resource Portal. (2014b) *Ebolavirus cycle*. Disponível em: http://viralzone.expasy.org/all_by_protein/5016.html
- ExpASy: SIB Bioinformatics Resource Portal. (2015) *Ebolavirus, Genome*. Disponível em: http://viralzone.expasy.org/all_by_species/207.html
- Feldman, H., & Geisbert, T. (2011). Ebola haemorrhagic fever. *The Lancet*, 377(9768), 1–24. Doi: 10.1016/S0140-6736(10)60667-8
- Galán-Huerta, K., Arellanos-Soto, D., Rivas-Estilla, A. M., de la Cruz, V. B., & Ramos-Jiménez, J. (2014). Ebola virus disease 2014. *Medicina Universitária-Elsevier*,

- 16(65): 207-215. Disponível em: <http://www.elsevier.es/es-revista-medicina-universitaria-304-articulo-ebola-virus-disease-2014-X1665579614676072>
- Geisbert, T. W., Young, H. A., Jahrling, P. B., Davis, K. J., Larsen, T., Kagan, E., & Hensley, L. E. (2003). Pathogenesis of Ebola Hemorrhagic Fever in Primate Models. *The American Journal of Pathology*, 163(6), 2371-2382. Doi: 10.1016/S0002-9440(10)63592-4
- GlaxoSmithKline. (12 de Maio de 2015). *GSK/NIH Ebola Vaccine Development*. Disponível em: <http://www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/BloodVaccinesandOtherBiologics/VaccinesandRelatedBiologicalProductsAdvisoryCommittee/UCM448003.pdf>
- Goodsell, D. (Outubro de 2014). Ebola Virus Proteins. *RCSB Protein Data Bank*. Doi: 10.2210/rcsb_pdb/mom_2014_10
- Griensven, J., Edwards, T., de Lamballerie, X., Semple, M. G., Gallian, P., Baize, S., ... Haba, N. (2016). Evaluation of Convalescent Plasma for Ebola Virus Disease in Guinea. *The New England Journal of Medicine*, 374, 33–42. Doi: 10.1056/NEJMoa1511812
- Henao-Restrepo, A. M., Longini, I. M., Egger, M., Dean, N. E., Edmunds, W. J., Camacho, A., ... Røttingen, J. A. (2015). Efficacy and effectiveness of an rVSV-vectored vaccine expressing Ebola surface glycoprotein: interim results from the Guinea ring vaccination cluster-randomised trial. *The Lancet*, 386(9996), 1-10. Doi: 10.1016/S0140-6736(15)61117-5
- Herbert, A. S., Davidson, C., Kuehne, A. I., Bakken, R., Braigen, S. Z., Gunn, K. E., ... Dye, M. (2015). Niemann-Pick C1 Is Essential for Ebolavirus Replication and Pathogenesis In Vivo. *mBio*, 6(3), 1–12. Doi: 10.1128/mBio.00565-15
- Hill-Batorski, L., Halfmann, P., Neumann, G., & Kawaoka, Y. (2013). The Cytoprotective Enzyme Heme Oxygenase-1 Suppresses Ebola Virus Replication. *Journal of Virology*, 87(24), 13795–13802. Doi: 10.1128/JVI.02422-13

- Hoffmann, M., Hernández, M. G., Berger, E., Marzi, A. & Pöhlmann, S. (2016). The Glycoproteins of All Filovirus Species Use the Same Host Factors for Entry into Bat and Human Cells but Entry Efficiency Is Species Dependent. *PLOS One*, *11*(2), 1-17. Doi: 10.1371/journal.pone.0149651
- Hofmann-Winkler, H., Kaup, F., & Pöhlmann, S. (2012). Host cell factors in filovirus entry: Novel players, new insights. *Viruses*, *4*(12), 3336–3362. Doi: 10.3390/v4123336
- Hunt, C. L., Lennemann, N. J., & Maury, W. (2012). Filovirus entry: A novelty in the viral fusion world. *Viruses*, *4*(2), 258–275. Doi: 10.3390/v4020258
- Internacional Committee on Taxonomy of Viruses. (2016). *Virus Taxonomy*. Disponível em: <http://www.ictvdb.org/virusTaxonomy.asp>
- Jacobs, M., Aarons, E., Bhagani, S., Buchanan, R., Cropley, I., Hopkins, S., ... Rodger, A. (2015). Post-exposure prophylaxis against Ebola virus disease with experimental antiviral agents: A case-series of health-care workers. *The Lancet Infectious Diseases*, *15*(11), 1300–1304. Doi: 10.1016/S1473-3099(15)00228-5
- Kraft, C. S., Hewlett, A. L., Koepsell, S., Winkler, A. M., Kratochvil, C. J., Larson, L., ... Ribner, B. S. (2015). The use of TKM- 100802 and convalescent plasma in 2 patients with Ebola virus disease in the United States. *Clinical Infectious Disease: Oxford Journals*, *61*(4), 496-502. Doi: 10.1093/cid/civ334
- Kumar, V., Aster, J. C., & Abbas, A. (2016). *Robbins & Cotran Patologia – Bases Patológicas das Doenças*. 9ª Edição. Rio de Janeiro, Brasil: Elsevier
- Kuroda, M., Fujikura, D., Nanbo, A., Marzi, A., Noyori, O., Kajihara, M., ... Takada, A. (2015). Interaction between TIM-1 and NPC1 Is Important for Cellular Entry of Ebola Virus. *Journal of Virology*, *89*(12), 6481–93. Doi: 10.1128/JVI.03156-14
- Lai, K. Y., Ng, W. Y. G., & Cheng, F. F. (2014). Human Ebola virus infection in West Africa: a review of available therapeutic agents that target different steps of the life cycle of Ebola virus. *Infectious Diseases of Poverty*, *3*:43, 1-17. Doi: 10.1186/2049-9957-3-43

- Lennemann, N. J., Rhein, B. A., Ndungo, E., Chandran, K., Qiu, X., & Maury, W. (2014). Comprehensive functional analysis of N-linked glycans on ebola virus GP1. *mBio*, 5(1), 1–9. Doi: 10.1128/mBio.00862-13
- Lennemann, N. J., Walkner, M., Berkebile, a. R., Patel, N., & Maury, W. (2015). The Role of Conserved N-Linked Glycans on Ebola Virus Glycoprotein 2. *Journal of Infectious Diseases*, 212(Suppl 2), S1–S6. Doi: 10.1093/infdis/jiv201
- Linden, W. A., Schulze, C. J., Herbert, A. S., Krause, T. B., Wirchnianski, A. A., Dye, J. M., ... Bogoyo M. (2016). Cysteine Cathepsin Inhibitors as Anti-Ebola Agents. *ACS Infectious Diseases* 2(3), 1-14. Doi: 10.1021/acsinfecdis.5b00130
- Mapp Biopharmaceutical. (2015). *ZMapp FAQ*. Disponível em: <http://mappbio.com/zmapp-faq/>
- Markosyan, R. M., Miao, C., Zheng, Y. M., Melikyan, G. B., Liu, S. L., & Cohen, F. S. (2016). Induction of Cell-Cell Fusion by Ebola Virus Glycoprotein: Low pH Is Not a Trigger. *PLoS Pathogens*, 12(1), 1–31. Doi: 10.1371/journal.ppat.1005373
- Martines, R. B., Ng, D. L., Greer, P. W., Rollin, P. E., & Zaki, S. R. (2015). Tissue and cellular tropism, pathology and pathogenesis of Ebola and Marburg viruses. *Journal of Pathology*, 235(2), 153–174. Doi:10.1002/path.4456
- Maruyama, J., Miyamoto, H., Kajihara, M., Ogawa, H., Maeda, K., Sakoda, Y., ..., Takada, A. (2013). Characterization of the Envelope Glycoprotein of a Novel Filovirus, Lloviu Virus. *Journal of Virology*, 88(1), 99-109. Doi:10.1128/JVI.02265-13
- Marzi, A., Reinheckel, T., & Feldmann, H. (2012). Cathepsin B & L Are Not Required for Ebola Virus Replication. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6(12), 1-10. Doi: 10.1371/journal.pntd.0001923
- Médicos Sem Fronteiras. (4 de Fevereiro de 2015). Testes de tratamento para *Ebola são suspensos na Libéria*. Disponível em: <http://www.msf.org.br/noticias/testes-de-tratamento-para-ebola-sao-suspensos-na-liberia>

- Mehedi, M., Falzarano, D., Seebach, J., Hu, X., Carpenter, M. S., Schnittler, H.J. & Feldmann, H. (2011). A New Ebola vírus Nonstructural Glycoprotein Expressed through RNA Editing. *Journal of Virology*, 85(11), 5406-5414. Doi: 10.1128/JVI.02190-10
- Menéndez, J. M., Simón, F., & Barberán, J. (2014). Revisión Enfermedad por virus Ébola , una visión global. *Revista Española de Quimioterapia*, 27(4), 230–238. Disponível em: <http://seq.es/seq/0214-3429/27/4/menendez.pdf>
- Messaoudi, I., Amarasinghe, G. K., & Basler, C. F. (2015). Filovirus pathogenesis and immune evasion: insights from Ebola vírus and Marburg vírus. *Nature*, 663-676. Doi: 10.1038/nrmicro3524
- Meyers, L., Frawley, T., Goss, S., & Kang, C. (2015). Ebola virus outbreak 2014: Clinical review for emergency physicians. *Annals of Emergency Medicine*, 65(1), 101–108. Doi: 10.1016/j.annemergmed.2014.10.009
- Miao, C., Li, M., Zheng, Y. M., Cohen, F. S., & Liu, S. L. (2015). Cell-cell contact promotes Ebola virus GP-mediated infection. *Virology*, 488, 202–215. Doi: 10.1016/j.virol.2015.11.019
- Mühlberger, E. (2007) Filovirus replication and transcription. *Future Virology*, 2(2), 1-16. Doi: 10.2217/17460794.2.2.205
- National Institute of Allergy and Infectious Diseases. (27 de Fevereiro de 2015). *Liberia - U.S. Clinical Research Partnership Opens Trial to Test Ebola Treatments*. Disponível em: <https://www.niaid.nih.gov/news-events/liberia-us-clinical-research-partnership-opens-trial-test-ebola-treatments>
- National Institute of Allergy and Infectious Diseases. (23 de Fevereiro de 2016). *Experimental Ebola Drug ZMapp May Benefit Patients, but Insufficient Data to be Certain, Study Finds*. Disponível em: <https://www.niaid.nih.gov/news-events/experimental-ebola-drug-zmapp-may-benefit-patients-insufficient-data-be-certain-study>

- National Institute of Health. (2 de Fevereiro de 2015). *Ebola Vaccine Trial Opens in Liberia*. Disponível em: <https://www.nih.gov/news-events/news-releases/ebola-vaccine-trial-opens-liberia>
- Ohimain, E. I. (2015). Recent advances in the development of vaccines for Ebola virus disease. *Virus Research*, 211, 174–185. Doi: 10.1016/j.virusres.2015.10.021
- Olival, K. J., & Hayman, D. T. S. (2014). Filoviruses in bats: current knowledge and future directions. *Viruses*, 6(4), 1759–88. Doi:10.3390/v6041759
- Onwuakor, C. E. (2014). Ebola Outbreak in Africa: Current Issues – A Mini Review. *American Journal of Medical Case Reports*, 2(9), 184-186. Doi: 10.12691/ajmcr-2-9-6
- Orientação da Direção-Geral da Saúde nº 015/2014 de 02/09/2014. Atualizado a 13 de Novembro de 2015a. Lisboa: Ministério da Saúde.
- Orientação da Direção-Geral da Saúde nº 020/2014 de 29/10/2014. Atualizado a 13 de Novembro de 2015c. Lisboa: Ministério da Saúde.
- Orientação da Direção-Geral da Saúde nº 021/2014 de 29/10/2014. Atualizado a 13 de Novembro de 2015b. Lisboa: Ministério da Saúde.
- Parra, J. M., Salmerón, O. J., & Velasco, M. (2014). The First Case of Ebola Virus Disease Acquired outside Africa. *The New England Journal of Medicine*, 2439–2440. Doi: 10.1056/NEJMc1412662
- Passi, D., Sharma, S., Dutta, S. R., Dudeja, P., & Sharma, V. (2015). Ebola virus disease (The killer virus): Another threat to humans and bioterrorism: Brief review and recent updates. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 9(6), LE01-LE08. Doi: 10.7860/JCDR/2015/13062.6100
- Qiu, X., Wong, G., Audet, J., Bello, A., Fernando, L., Alimonti, J. B., ..., Kobinger, G. P. (2014). Reversion of advanced Ebola virus disease in nonhuman primates with Zmapp. *Nature*, 514(7520), 1-26. Doi: 10.1038/nature13777
- Rewar, S., & Mirdha, D. (2014). Transmission of Ebola virus disease: An overview. *Annals of Global Health*, 80(6), 444–451. Doi: 10.1016/j.aogh.2015.02.005

- Shears, P., & O'Dempsey, T. J. D. (2015). Ebola virus disease in Africa: Epidemiology and nosocomial transmission. *Journal of Hospital Infection*, 90(1), 1–9. Doi: 10.1016/j.jhin.2015.01.002
- Sissoko, D., Laouenan, C., Folkesson, E., M'Lebing, A. B., Beavogui, A. H., Baize, S., ... Malvy, D. (2016). Experimental Treatment with Favipiravir for Ebola Virus Disease (the JIKI Trial): A Historically Controlled, Single-Arm Proof-of-Concept Trial in Guinea. *PLoS Medicine*, 13(3), 1–36. Doi: 10.1371/journal.pmed.1001967
- Spickler, A. R. (2014). Ebolavirus and Marburgvirus Infections. *The Center for Food Security and Public Health*, 1–13.
- Srivastava, P. N., Jain, R., Dubey, S. D., Bhatnagar, S., & Ahmad, N. (2015). Prediction of Epitope-Based Peptides for Vaccine Development from Coat Proteins GP2 and VP24 of Ebola Virus Using Immunoinformatics. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 22 (1), 119-133. Doi: 10.1007/s10989-015-9492-6
- Stephens, D. S., Ribner, B. S., Gartland, B. D., Feistritzer, N. R., Farley, M. M., Larsen, C. P., & Fox, J. T. (2015). Ebola virus disease: Experience and decision making for the first patients outside of africa. *PLoS Medicine*, 12(7), 1–12. Doi: 10.1371/journal.pmed.1001857
- Tseng, C. P., & Chan, Y. J. (2015). Overview of Ebola virus disease in 2014. *Journal of the Chinese Medical Association*, 78(1), 51–55. Doi: 10.1016/j.jcma.2014.11.007
- Vuillet-A-Ciles, H., Rogez, S., & Buxeraud, J. (2015). Ebola: Chronique d'une épidémie majeure. *Actualités Pharmaceutiques*, 54(548), 36–40. Doi: 10.1016/j.actpha.2015.06.013
- Weyer, J., Grobbelaar, A., & Blumberg, L. (2015). Ebola Virus Disease: History, Epidemiology and Outbreaks. *Current Infectious Disease Reports*, 17(5), 1–8. Doi: 10.1007/s11908-015-0480-y
- World Health Organization. (25 de Novembro de 2014). *Emergency Quality Assessment Mechanism for EVD IVDs PUBLIC REPORT, Product: RealStar® Filovirus Screen RT-PCR Kit 1.0*, 1–4. Disponível em:

http://www.who.int/diagnostics_laboratory/procurement/141125_evd_public_report_altona_v1.pdf?ua=1

World Health Organization. (19 de Fevereiro de 2015b). *Emergency Use Assessment and Listing for Ebola Virus Disease IVDs PUBLIC REPORT, Product: ReEBOV™ Antigen Rapid Test Kit*, 1–5. Disponível em: http://www.who.int/diagnostics_laboratory/procurement/150219_reebov_antigen_rapid_test_public_report.pdf?ua=1

World Health Organization. (1 de Abril de 2015c). *Emergency Use Assessment and Listing Procedure for EVD IVDs PUBLIC REPORT, Product: Liferiver™ - Ebola Virus (EBOV) Real Time RT-PCR Kit*, 1–4. Disponível em: http://www.who.int/medicines/ebola-treatment/150427FinalPR_EVD_LiferiverChina.pdf?ua=1

World Health Organization. (3 de Julho de 2015e). *Categorization and prioritization of drugs for consideration for testing or use in patients infected with Ebola*, 1–10. Disponível em: http://www.who.int/medicines/ebola-treatment/2015_0703TablesofEbolaDrugs.pdf?ua=1

World Health Organization. (19 de Agosto de 2015d). *Emergency Use Assessment and Listing for EVD IVDs PUBLIC REPORT, Product: FilmArray™ Biothreat -E*, 1–3. Disponível em: http://www.who.int/diagnostics_laboratory/procurement/150819_final_public_report_pqdx_0010-010-00.pdf?ua=1

World Health Organization. (4 de Setembro de 2015a). *Ebola virus disease in pregnancy: Screening and management of Ebola cases, contacts and survivors*. 1–4. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/184163/1/WHO_EVD_HSE_PED_15.1_eng.pdf?ua=1

World Health Organization. (6 de Outubro de 2015f). *Ebola vaccines, therapies, and diagnostics*. Disponível em: http://www.who.int/medicines/emp_ebola_q_as/en/

11. Bibliografia

World Health Organization. (Janeiro de 2016b). *Ebola virus disease*. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/en/>

World Health Organization. (8 de Março de 2016h). *Questions and Answers*. Disponível em: http://www.who.int/medicines/ebola-treatment/q-a_ebola-ca-suffit/en/

World Health Organization. (24 de Março de 2016e). *Emergency Use Assessment and Listing for EVDIVDs PUBLIC REPORT, Product: OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test Kit*, 1-6. Disponível em: http://www.who.int/diagnostics_laboratory/160324_final_public_report_ea_0023_021_00.pdf?ua=1

World Health Organization. (Abril de 2016f). *Emergency Use Assessment and Listing for EVD IVDs PUBLIC REPORT, Product: Expert® Ebola Assay*, 1-3. Disponível em: http://www.who.int/diagnostics_laboratory/160418_final_public_report_ea_0020-019-00_amended.pdf?ua=1

World Health Organization. (11 de Abril de 2016c). *Clinical care for survivors of Ebola virus disease*, 1-31. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204235/1/WHO_EVD_OHE_PED_16.1_eng.pdf?ua=1

World Health Organization. (19 de Abril de 2016g). *Clinical trial results of therapeutic drug for Ebola published*. Disponível em: <http://www.who.int/tdr/news/2016/results-therapeutic-drug-ebola/en/>

World Health Organization. (Junho de 2016a). *End of Ebola transmission in Guinea and Liberia*. Disponível em: <http://www.who.int/csr/disease/ebola/en/>

World Health Organization. (2016d). *Diagnostics*. Disponível em: http://www.who.int/medicines/ebola-treatment/emp_ebola_diagnostics/en/