



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

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**INFEÇÃO POR FILOVÍRUS – VÍRUS ESQUECIDOS QUE SE
TORNARAM NOS MAIS TEMIDOS**

Trabalho submetido por
Inês Nunes Dinis Teixeira
para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

setembro de 2015



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

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**INFEÇÃO POR FILOVÍRUS – VÍRUS ESQUECIDOS QUE SE
TORNARAM NOS MAIS TEMIDOS**

Trabalho submetido por
Inês Nunes Dinis Teixeira
para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Prof. Doutora Perpétua Gomes

setembro de 2015

*Ao meu querido pai que, apesar dos 6.000,00 Km que nos separam, nunca deixou de
estar presente na minha caminhada acadêmica.
À minha querida mãe que esteve sempre do meu lado e me deu forças através do seu
carinho e ternura.
A vocês que me proporcionaram a concretização de um sonho.*

Agradecimentos

OBRIGADA aos **Melhores dos Melhores Pais do Mundo!! Minha querida Mãe**, a tua dedicação, amor e perseverança, foram a lufada de ar fresco que tantas vezes eu necessitei, e me tornaram numa melhor pessoa. **Meu querido pai**, por vezes fizeste-me falta, mas reconheço e valorizo o teu sacrifício e esforço, e em ti vejo a força, luta, ambição, inteligência, garra e determinação. Amo-vos no sentido mais lato, bonito e profundo desta palavra!

Obrigada **Mana**, pela coragem que me transmitiste ao seguir as tuas pisadas, pela força e apoio que me ajudaram com certeza, nesta batalha. Amo-te daqui até à lua!

Obrigada **avó Glória** e demais família pelo amor e ternura.

Obrigada **Tiago**, meu querido amor, estiveste sempre aqui nos bons e maus momentos, apoiaste-me como mais ninguém, deste-me a força e determinação, seguraste-me quando desabei e abraçaste-me quando precisei. Ao teu amor, ternura e companheirismo. Amo-te até infinitos mil!

Obrigada aos grandes amigos que fiz neste percurso e que juntos escrevemos memórias maravilhosas que nunca esquecerei! **Rita, Mafalda, Catarina, Leonor, Mariana, Maria, Laura, Betcha**, espero ter-vos sempre na minha vida!

Obrigada à minha grande amiga de sempre **Joana**, que por muitas voltas que a vida dê já nada vai mudar e separar este laço que nos une.

Obrigada à **Professora Perpétua Gomes** que orientou e iluminou o caminho desta dissertação. O seu apoio foi essencial na concretização deste trabalho.

Obrigada à **equipa fantástica da farmácia Reis**, que me acolheu da melhor forma possível, e me fortaleceu os conhecimentos que aprendi nestes cinco anos.

Obrigada à **equipa da farmácia do Hospital Sousa Martins**.

Resumo

Os filovírus pertencem à família *Filoviridae* da qual fazem parte três géneros distintos, *Marburgvirus*, *Ebolavirus* e *Cuevavirus*. No género *Marburgvirus* está incluída apenas uma única espécie o *Marburg marburgvirus* a qual é representada por dois vírus divergentes, sendo o vírus Marburg e o vírus Ravn. Do género *Ebolavirus* fazem parte cinco espécies, cada uma das quais representada por um vírus: *Zaire ebolavirus* – vírus Ébola (EBOV), *Sudão ebolavirus* – vírus Sudão (SUDV), *Taiforest ebolavirus* – vírus Tai forest (TAFV), *Bundibugyo ebolavirus* – vírus Bundibugyo (BDBV) e o *Reston ebolavirus* – vírus Reston (RESTV).

O género *Cuevavirus* inclui apenas uma espécie, a *Lloviu Cuevavirus* e é designado pelo vírus Lloviu (LLOV). Deste género pouco se sabe no que respeita às propriedades biológicas e à patogenicidade, embora, até à data não são conhecidas infecções em primatas não humanos e humanos.

Os vírus dos géneros *Marburgvirus* e *Ebolavirus* são os mais virulentos e mortais entre as febre hemorrágicas virais. Por esta razão, correspondem a potenciais agentes de bioterrorismo. A mortalidade resulta da supressão do sistema imunitário e de uma resposta inflamatória sistêmica que causa comprometimento do sistema vascular, do sistema de coagulação, e de sistema imunológico, levando à insuficiência de múltiplos órgãos e choque.

Esta monografia, tem como objectivo fornecer uma visão atual e geral dos Filovírus com ênfase na transmissão, patogénese, manifestações clínicas, medidas de prevenção e opções de tratamento, bem como as novas estratégias de tratamento.

Palavras-chave: Filovírus; Marburgvirus; Ebolavirus; Cuevavirus

Abstract

The Filovirus belongs to the Filoviridae family that is divided into three distinct genders, *Marburgvirus*, *Ebolavirus* and *Cuevavirus*. The *Marburgvirus* has only one specie, the Marburg Marburgvirus, who is represented by two divergent virus, the Marburg and the Ravn virus. On the *Ebolavirus* genders there are five different species, each one of them is represented by one virus: *Zaire Ebolavirus* – Ebola virus (EBOV), *Sudan Ebolavirus* – Sudan virus (SUDV), *Taiforest Ebolavirus* – Tai forest virus (TAFV), *Bundibugyo Ebolavirus* – Bundibugyo virus (BDBV) and the *Reston Ebolavirus* – Reston virus (RESTV).

The Lloviu Cuevavirus is a specie of the Cuevavirus gender, and is designated as Lloviu (LLOV). There is limited information on this virus and its biological and pathogenic properties, until today there are no known infection in primates or Humans.

The most virulent and deadly within the viral hemorrhagic fever gender are the *Marburgviruses* and *Ebolavirus*, as such they are considered as a potential bioterrorism weapon. The high mortality rate results from the virus ability to suppress the immunary system response, causing a systemic inflammation, and leading to a malfunction of blood coagulation, cardiac and immun systems. Causing general organ failure.

This dissertation main goal is to give a wide analysis of the Filovirus, with a special emphasis on the transmission, pathogenesis, clinic manifestations, prevention measures and treatment methods, as well as new treatment strategies.

Key words: Filovirus; Marburgvirus; Ebolavirus; Cuevavirus

Índice Geral

| | |
|---|----|
| 1. Introdução Geral..... | 19 |
| 1.1. Evolução Histórica..... | 19 |
| 2. Distribuição Geográfica dos Filovírus | 21 |
| 2.1. Incidência..... | 21 |
| 3. Características Gerais dos Filovírus | 27 |
| 3.1. Glicoproteínas Virais | 27 |
| 3.2. Taxonomia | 30 |
| 3.2.1. Marburgvirus | 30 |
| 3.2.2. Ebolavirus..... | 30 |
| 3.2.3. Cuevavirus | 31 |
| 4. Transmissão | 33 |
| 4.1. Reservatório | 33 |
| 4.2. Transmissão Reservatório - Hospedeiro-alvo..... | 34 |
| 4.3. Transmissão Humano-Humano | 38 |
| 5. Fisiopatologia da Infecção por Filovírus | 41 |
| 5.1. Sintomatologia | 44 |
| 5.2. Período de incubação | 45 |
| 6. Diagnóstico..... | 47 |
| 6.1. Diagnóstico Laboratorial | 47 |
| 6.2. Testes da Malária | 48 |
| 6.3. Teste rápido para deteção de Antígeno Viral..... | 48 |
| 6.4. Isolamento do vírus em culturas celulares | 49 |
| 6.5. Coloração Imuno-histoquímica..... | 49 |
| 6.6. Reação de polimerização em cadeia em tempo real – PCR-TR | 50 |
| 6.7. Serologia | 50 |
| 6.8. Microscopia Eletrónica | 51 |
| 6.9. Hibridação in situ..... | 51 |
| 7. Medidas de Prevenção e Controlo..... | 53 |
| 7.1. Colocação e remoção do EPI | 58 |
| 7.2. Desafios | 61 |
| 8. Tratamento | 63 |
| 8.1. Tratamento Atual | 63 |

| | |
|--|----|
| 8.2. Moduladores da transcrição viral – Pequenas moléculas interferentes com a síntese de RNA | 64 |
| 8.2.1. TKM-EBOLA..... | 64 |
| 8.2.2. AVI- 6002 – Oligomeros de Fosforodiamidato morfolino..... | 65 |
| 8.2.3. AVI-6003..... | 65 |
| 8.2.4. Favipiravir | 66 |
| 8.2.5. BCX4430..... | 67 |
| 8.2.6. CMX001..... | 68 |
| 8.2.7. NP-718m-LNP..... | 68 |
| 8.2.8. Inibidores de Hidrolase s-adenosil (HAS)..... | 68 |
| 8.3. Moduladores Seletivos dos Recetores de Estrogénio (SERMS)..... | 69 |
| 8.4. Fármacos que modulam os sintomas sem visar diretamente o vírus | 69 |
| 8.4.1. Interferão | 69 |
| 8.4.2. Proteína anticoagulante C2 nematoide recombinante e a Proteína C humana ativada recombinante..... | 70 |
| 8.5. Inibidor da entrada viral com base em péptidos | 70 |
| 8.6. Benzodiazepina..... | 71 |
| 8.7. Fármacos usados no tratamento cardiovascular..... | 71 |
| 8.8. Tratamentos Anti-maláricos..... | 72 |
| 8.9. Vacinas Terapêuticas | 72 |
| 8.9.1. Anticorpos Monoclonais | 73 |
| 8.9.2. Vacina VSV-Filovírus GP..... | 75 |
| 8.10. Vacinas Preventivas | 76 |
| 8.10.1. Vacinas Vetoriais..... | 77 |
| 8.10.2. Vacinas de DNA..... | 78 |
| 8.10.3. Vacinas com Partículas Semelhantes a Vírus(VLP)..... | 78 |
| 9. Tratamentos Experimentais..... | 81 |
| 10. Conclusão e Perspectivas Futuras..... | 85 |
| 11. Bibliografia..... | 87 |

Índice de Figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Distribuição Geográfica de surtos por Filovírus;..... | 25 |
| Figura 2-Estrutura do <i>Ebolavirus</i> ; | 29 |
| Figura 3 - Zona Viral, Constituição dos Filovírus;..... | 29 |
| Figura 4- Hipóteses da transmissão da infeção por Filovírus;..... | 37 |
| Figura 5- Transmissão da infeção de Filovírus | 39 |
| Figura 6- Início da infeção do Filovírus; | 43 |
| Figura 7- Modelo de transmissão e início da infeção de Filovírus;..... | 46 |
| Figura 8- Equipamento de Proteção Individual;..... | 57 |
| Figura 9- Equipamento de Proteção Individual;..... | 60 |
| Figura 10- Centro de tratamento de vírus Ébola; e área de isolamento;..... | 62 |

Índice de Tabelas

| | |
|---|----|
| Tabela 1- Taxonomia dos Filovírus;..... | 32 |
| Tabela 2- Métodos de Diagnóstico consoante o tempo de infeção | 51 |

Lista de abreviaturas

EBOV – Vírus Ébola

ZEBOV – Zaire Ebolavirus

SUDV - Vírus Sudão

TAFV - Vírus Tai forest

BDBV - Vírus Bundibugyo

RESTV - Vírus Reston

REBOV - Reston Ebolavirus

MARV – Vírus Marburg

LLOV - vírus Lloviu

ICTV - Comité Internacional da Taxonomia de Vírus

NiV – Vírus Nipah

BSL-4 – Laboratórios de Biossegurança de nível 4

EPI - Equipamento de proteção individual

RDC – República Democrática do Congo

VSV – Vírus da estomatite vesicular

VEEV - Vírus da encefalite equina da Venezuela

FDA – Food Drug Administration

OMS – Organização Mundial de Saúde

CDC – Centers for Disease Control and Prevention

MSF – Médicos Sem Fronteiras

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1. Evolução Histórica

O primeiro Filovírus a ser descoberto foi o *Marburgvirus*, em Marburg, na Alemanha, em 1967, após exposição a macacos exportados e infetados (Olival & Hayman, 2014). Dos 31 trabalhadores expostos a estes macacos, 7 morreram. Só em 1975 este vírus voltou a ressurgir, após exposição de um viajante no Zimbabué, sendo transmitido ao seu companheiro de viagem e a uma enfermeira (Centers for Disease Control and Prevention, 2015c). Desde esta época ocorreram alguns casos esporádicos e duas grandes epidemias em 1999 e em 2005, na República Democrática do Congo (RDC) e Angola, respectivamente (Centers for Disease Control and Prevention, 2015c).

Em 1976 descobriram-se as espécies *Sudão ebolavirus* e *Zaire ebolavirus*, ambas devido a surtos ocorridos no Leste do Sudão e no Leste da RDC (Olival & Hayman, 2014). Ambos os vírus mostraram ser poderosamente letais (Centers for Disease Control and Prevention, 2014).

Em 1994 surgiu um caso não fatal de vírus Tai forest.

Em 1989, foi descoberto o *Reston ebolavirus* em macacos importados das Filipinas para os EUA.

Em 2007, no Oeste do Uganda, foi descoberto o *Bundibugyo ebolavirus* após episódios de febre hemorrágica em humanos (Olival & Hayman, 2014).

2. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DOS FILOVÍRUS

2.1. Incidência

Como referido anteriormente, foi em 1967, em Marburg na Alemanha que o primeiro Filovírus foi descoberto (Olival & Hayman, 2014). Posteriormente, verificaram-se pequenos surtos humanos com o vírus Marburg e o vírus Ravn, ocorridos esporadicamente entre 1975 e 1997, alguns dos quais com ligações a cavernas de morcegos (Olival & Hayman, 2014).

Os maiores surtos de *Marburgvirus* ocorreram na República Democrática do Congo entre 1998 e 2000, sendo que das 154 pessoas infetadas morreram 128, e em Angola, entre 2004 a 2005, das 252 pessoas infetadas morreram 227. A origem do primeiro estava ligado a cavernas de exploração minéria de ouro, porém, a origem do surto em Angola ainda é desconhecida. Entre 2007 e 2008 ocorreram três pequenos surtos no Uganda, associados também a cavernas de exploração minéria de ouro. Todas estas cavernas são habitat de grandes populações de morcegos, pelo que têm sido investigadas sobre a sua ecologia e vigilância epidemiológica (Olival & Hayman, 2014).

Em 1976, devido a surtos ocorridos no Leste do Sudão e no Leste da República Democrática do Congo, foram descobertas as espécies *Sudão ebolavirus* e *Zaire ebolavirus*, resultando 53% e 89% de taxa de mortalidade, respectivamente (Olival & Hayman, 2014).

O surto de *Zaire ebolavirus* na República Democrática do Congo, surgiu em aldeias rurais dentro de zonas florestais, espalhando-se através do uso de seringas não esterilizadas quando os doentes foram ao hospital da província, no Hospital de Yambuku. Dos 17 profissionais de saúde deste hospital, adoeceram 13 e morreram 11. Pouco tempo depois, este hospital foi encerrado (Joel G. Breman, M.D., D.T.P.H., and Karl M. Johnson, 2014). Após estes acontecimentos, as pessoas infetadas e os seus familiares voltaram para as suas aldeias de origem por desacreditarem no sistema médico ocidental, procurando curandeiros tradicionais (Joel G. Breman, M.D., D.T.P.H., and Karl M. Johnson, 2014). Os aviões e barcos ficaram interditos de entrar ou sair daquela região. Não obstante, a credibilidade com a medicina ocidental foi gradualmente restaurada após várias tentativas com a comunidade, através do isolamento de doentes em cabanas fora das suas aldeias, sendo designado um membro, de preferência alguém que havia recuperado da doença, para levar comida e

medicamentos. Quando ocorriam mortes, foi aconselhada a simplificação das práticas fúnebres, nomeadamente a abolição da lavagem e o contato habitual de elementos da comunidade com os cadáveres, cobrindo-os em mortalhas devidamente desinfetados com hipoclorito antes de serem enterrados. As cabanas de isolamento e as roupas dos doentes sucumbidos eram queimados (Joel G. Breman, M.D., D.T.P.H., and Karl M. Johnson, 2014). Deste surto resultaram 280 mortes dos 318 casos de infeção (Centers for Disease Control and Prevention, 2015c).

O surto de *Sudão ebolavirus* ocorreu em Nzara e arredores, no qual a infeção, mais uma vez, se espalhou pelo contato próximo dentro dos hospitais. Foram infetados muitos profissionais de saúde (Centers for Disease Control and Prevention, 2015c).

Ainda em 1976, em Inglaterra, houve uma infeção acidental através de uma agulha contaminada pelo vírus Sudão (Centers for Disease Control and Prevention, 2015c).

Posteriormente em 1977, houve um caso de vírus Ébola na República Democrática do Congo, e em 1979, 37 casos de vírus Sudão no Sudão, dos quais morreram 22 pessoas (Centers for Disease Control and Prevention, 2015c; Olival & Hayman, 2014).

Em 1989, foi descoberto, em macacos importados das Filipinas para os Estados Unidos da América, o *Reston ebolavirus* (Centers for Disease Control and Prevention, 2014). Mais uma vez, nos EUA esta espécie foi detetada em infeções assintomáticas em macacos importados das Filipinas, em 1990 (Centers for Disease Control and Prevention, 2015c). Este facto foi novamente verificado em primatas não humanos em 1992 e 1996 e, em 2008 esta espécie foi observada em porcos (Olival & Hayman, 2014).

Em 1994 surgiu um caso não fatal de vírus Tai forest, num veterinário na Costa do Marfim, enquanto fazia uma biopsia num chimpanzé. Ficou doente mas sobreviveu (Feldman & Geisbert, 2012; Olival & Hayman, 2014).

Entre 1994 e 1997 e entre 2000 e 2005 surgiram numerosos surtos, sendo que todos relataram ser surtos de vírus Ébola, o que levou à associação com a região fronteiriça da República Democrática do Congo e do Gabão (Groseth, Feldmann, & Strong, 2007).

Ainda em 1996, existiram dois casos de vírus Ébola na África do Sul, quando um profissional de saúde viajou para o Gabão a fim de tratar doentes infetados pelo

vírus Ébola e esta exposição levou à infecção do mesmo e da enfermeira que terá tratado dele, acabando ambos por morrer (Centers for Disease Control and Prevention, 2015c).

Entre 2000 e 2001 ocorreu um surto no Uganda por vírus Sudão, que infetou 425 pessoas, tendo sido fatal para 224. Este facto esteve muito associado às tradições fúnebres culturais deste país, na qual os familiares não usaram equipamento próprio individual (Centers for Disease Control and Prevention, 2015c).

Em 2004 houve novamente um surto deste vírus no sul do Sudão, que ocorreu concomitante com um surto de Sarampo, exatamente na mesma área, e vários casos suspeitos de terem sido infetados com o vírus Sudão foram reclassificados como casos de sarampo. Morreram 7 das 17 pessoas infetadas pelo vírus Sudão (Centers for Disease Control and Prevention, 2015c). Também em 2004, na Rússia, houve um caso de óbito por vírus Ébola devido a contaminação num laboratório (Centers for Disease Control and Prevention, 2015c).

No Oeste do Uganda, em 2007, foi descoberto o *Bundibugyo ebolavirus* após casos de febre hemorrágica em humanos (Olival & Hayman, 2014). Das 149 pessoas infetadas, morreram 37, correspondendo a uma taxa de mortalidade de 25% (Centers for Disease Control and Prevention, 2015c).

Também em 2007, na República Democrática do Congo, houve um surto de vírus Ébola onde dos 264 infetados morreram 187, com 71% de taxa de mortalidade; julga-se que este surto se deveu ao consumo de carne de morcegos frugívoros, por humanos (Centers for Disease Control and Prevention, 2015c; Olival & Hayman, 2014).

Em 2011 ocorreu, no Uganda, um caso que resultou em morte, e em 2012, dos 11 casos de infecção resultaram 4 mortes por vírus Sudão (Centers for Disease Control and Prevention, 2015c).

Em 2012, houve um surto na RDC, de vírus Bundibugyo, no qual morreram 13 pessoas dos 36 infetadas (Centers for Disease Control and Prevention, 2015c).

Em 2013, no Uganda houve um surto de vírus Sudão com uma taxa de mortalidade de 50% (Centers for Disease Control and Prevention, 2015c).

Já mais recentemente, em março de 2014, ocorreu um surto de *Ebolavirus* que se espalhou para sete países: Guiné Conackri, Libéria, Serra Leoa, Nigéria, Senegal, Espanha e EUA, sendo este o mais grave e complexo surto de Ébola da história, muito devido a facto de se ter localizado, em grande parte, nas áreas urbanas (Li, Ying, Yu, Lu, & Jiang, 2015; Olival & Hayman, 2014; Ross, Olveda, & Yuesheng, 2014; Sarwar et al., 2014). Foi declarada emergência internacional de Saúde Pública a 8 de agosto de

2014 (Goeijenbier, Van Kampen, Reusken, Koopmans, & Van Gorp, 2014; MacIntyre, Chughtai, Seale, Richards, & Davidson, 2014).

Ao contrário de surtos anteriores, este foi extremamente difícil de ser contido, devido sobretudo aos distúrbios sociais que se verificaram, desagregação da lei e ordem, escassez de equipamento de proteção individual e esgotamento por parte dos profissionais de saúde, que foram igualmente vítimas, tendo 240 sido infetados (MacIntyre et al., 2014).

Perante estas evidências, existe uma falta de preparação para travar ameaças como estas, apesar das constantes garantias por parte das diversas autoridades a nível mundial (Ross et al., 2014).

A análise da sequência do genoma viral sugere que este surto foi causado pela espécie *Zaire Ebolavirus*, sendo a primeira vez que a mesma foi detetada na região oeste do continente Africano (Olival & Hayman, 2014). Este surto teve muito em comum com o que ocorreu em 1976, pois além de ambos resultarem da espécie *Zaire Ebolavirus*, tiveram início em comunidades rurais situadas em florestas, onde a caça é a principal fonte de alimento. Estes doentes rurais foram a hospitais das grandes zonas urbanas, nas quais os profissionais de saúde tiveram contato com os fluídos corporais, amplificando assim o surto. Desta forma estabeleceu-se a cadeia de transmissão de pessoa para pessoa (Camacho et al., 2014; Joel G. Breman, M.D., D.T.P.H., and Karl M. Johnson, 2014).

As espécies *Zaire ebolavirus*, *Sudão ebolavirus* e *Marburg marburgvirus* são as mais preocupantes para a saúde pública. E muito pouco se sabe da espécie *Bundibugyo ebolavirus*, pois ocorreram apenas dois surtos, não tendo ressurgido desde 2012 (Feldman & Geisbert, 2012).

Observar a figura 1 que retrata sucintamente o descrito anteriormente.

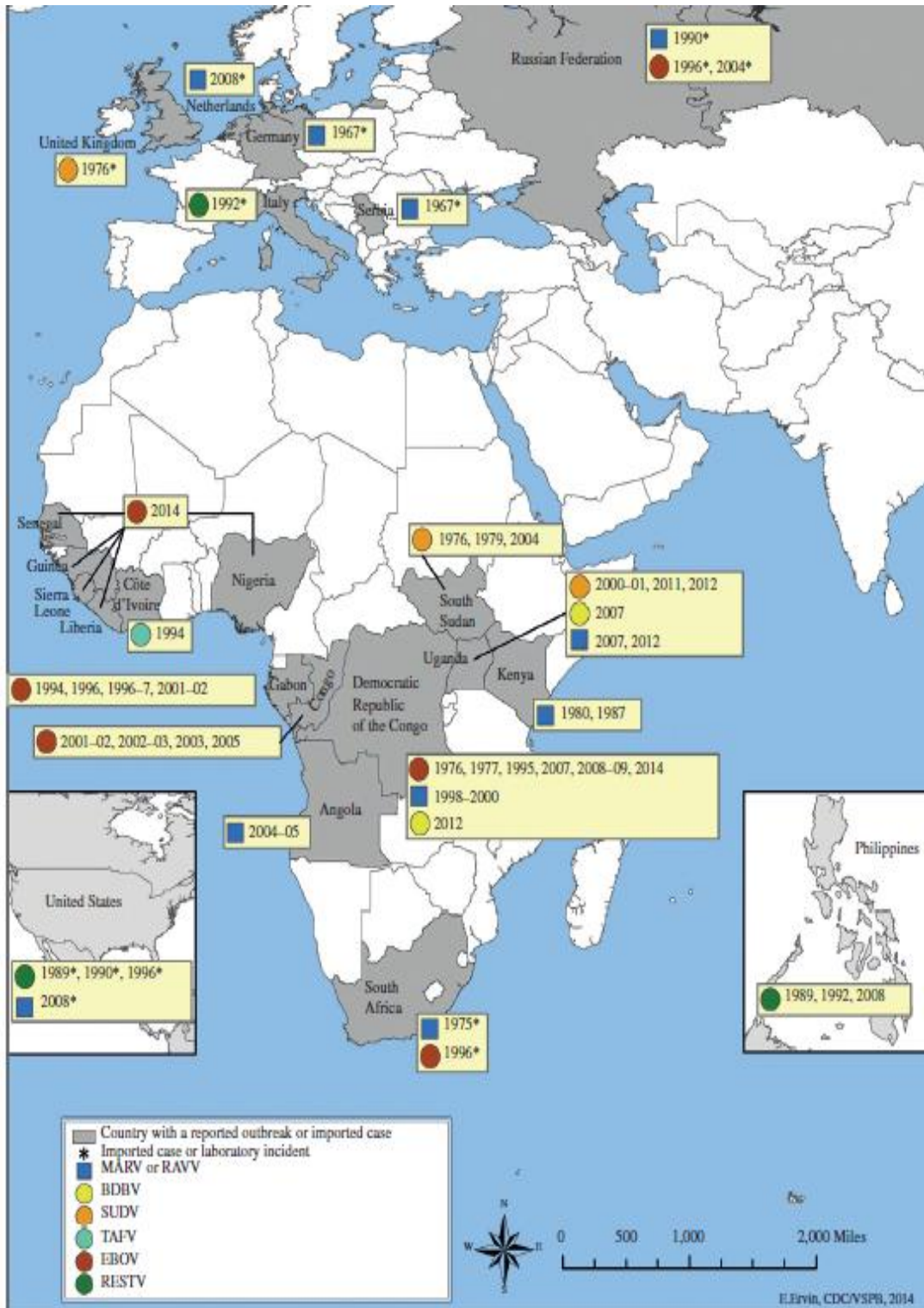


Figura 1 - Distribuição Geográfica de surtos por Filovírus; Observa-se através desta imagem os surtos relatados relativos aos Filovírus pelo mundo inteiro desde o seu conhecimento. (Retirado de Martines et al., 2015)

3. CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS FILOVÍRUS

Os Filovírus pertencem à família *Filoviridae* e à ordem *Mononegavirales* e são distintos de outras famílias desta ordem devido à sua morfologia, características físico-químicas e biológicas e pelo seu genoma, que é constituído por uma cadeia de RNA de polaridade negativa, não segmentado, e com 19kb de comprimento (Ansari, 2014; Olival & Hayman, 2014; Picazo & Giordanetto, 2014). São vírus pleomórficos, podendo conter partículas filamentosas longas, como também apresentar formas ramificadas ou circulares, com cerca de 665 a 1400nm de comprimento e cerca de 80nm de diâmetro (Ansari, 2014; De Clercq, 2014; Goldsmith, 2014; Pancer, 2015; Picazo & Giordanetto, 2014).

3.1. Glicoproteínas Virais

O RNA viral codifica sete genes que dão origem a uma nucleoproteína major (NP); uma nucleoproteína minor - VP30, que é um ativador da transcrição; uma glicoproteína (GP); uma RNA polimerase dependente do RNA; duas proteínas estruturais (VP40, que é uma proteína da matriz e a VP24 que é a segunda proteína da matriz) e a VP35, que é co-factor da polimerase. O genoma viral codifica ainda uma proteína não estrutural (sGP) (Ansari, 2014; Li et al., 2015; Olival & Hayman, 2014; Pancer, 2015; Picazo & Giordanetto, 2014).

Pode visualizar-se na figura 2 e 3 a disposição de todas estas proteínas na constituição dos Filovírus.

Os genes que codificam para as nucleoproteínas (NP e VP30) estão associados no genoma de RNA, estas nucleoproteínas são necessárias para a encapsidação do RNA, sendo a VP30 também um ativador da transcrição viral (Li et al., 2015).

A proteína VP35 é uma fosfoproteína que se liga à RNA polimerase, dependente de RNA e ajuda na síntese de RNA viral e consequentemente, na transcrição e replicação do genoma (Li et al., 2015). Todas estas proteínas, a NP, a VP30 e a VP35 participam assim no processo de replicação viral (Pancer, 2015). A proteína VP35 também bloqueia a indução de interferão e , o genoma de morcegos frugívoros contém um gene que codifica para esta proteína, sendo esta, talvez a explicação para estes serem imunes aos Filovírus (Feldman & Geisbert, 2012; Olival & Hayman, 2014).

As proteínas VP24 e VP40 formam a membrana viral interna, sendo a matriz desta constituída, na sua superfície externa, por glicoproteína (GP), que medeia a entrada do vírus nas células do hospedeiro (Li et al., 2015; Olival & Hayman, 2014). A proteína VP40 conduz à formação de partículas semelhantes a vírus (VLP) e conjuntamente com a VP24 influencia a capacidade do vírus se replicar em diferentes hospedeiros, desempenhando um papel importante relativamente à virulência dos Filovírus, pois inibem a síntese do interferão tipo I e II por parte da célula hospedeira (Pancer, 2015; Picazo & Giordanetto, 2014). A glicoproteína da membrana sofre uma clivagem proteolítica através de proteases do hospedeiro, nomeadamente a furina, resultando em duas subunidades GP1 e GP2 acopladas por ligação dissulfureto (Maruyama et al., 2013). Estes trímeros da glicoproteína (GP), a GP1 e a GP2 desempenham um papel importante na ligação do vírus às células alvo num hospedeiro, e além de mediar a ligação ao recetor, são responsáveis pela fusão da mesma com a membrana da célula hospedeira (Pancer, 2015; Picazo & Giordanetto, 2014). A subsequente entrada do vírus ocorre através de uma cascata complexa de micropinocitose-endocitose, o tráfico endossoma e a ativação proteolítica (Olival & Hayman, 2014; Picazo & Giordanetto, 2014). Por fim, resulta na introdução de viriões e na replicação do genoma viral (Picazo & Giordanetto, 2014).

Ao contrário de outros Filovírus, o EBOV produz elevados níveis de glicoproteína não estrutural (sGP). A produção de grandes quantidades de glicoproteína não estrutural durante a infeção é considerada um elemento adicional de proteção do vírus contra a sua eliminação pela resposta humoral, do sistema imunitário, do hospedeiro. Alguns autores sugerem que esta glicoproteína não estrutural ativa as células dendríticas não infetadas, conduzindo assim, à secreção de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias. Por outro lado, existem autores que afirmam que esta proteína poderá ter também atividade citotóxica (Pancer, 2015).

Constatou-se adicionalmente que a RNA polimerase dos Filovírus não tem nenhuma função de reparação no processo da transcrição, podendo ocorrer diversas mutações (Pancer, 2015).

Ebolavirus

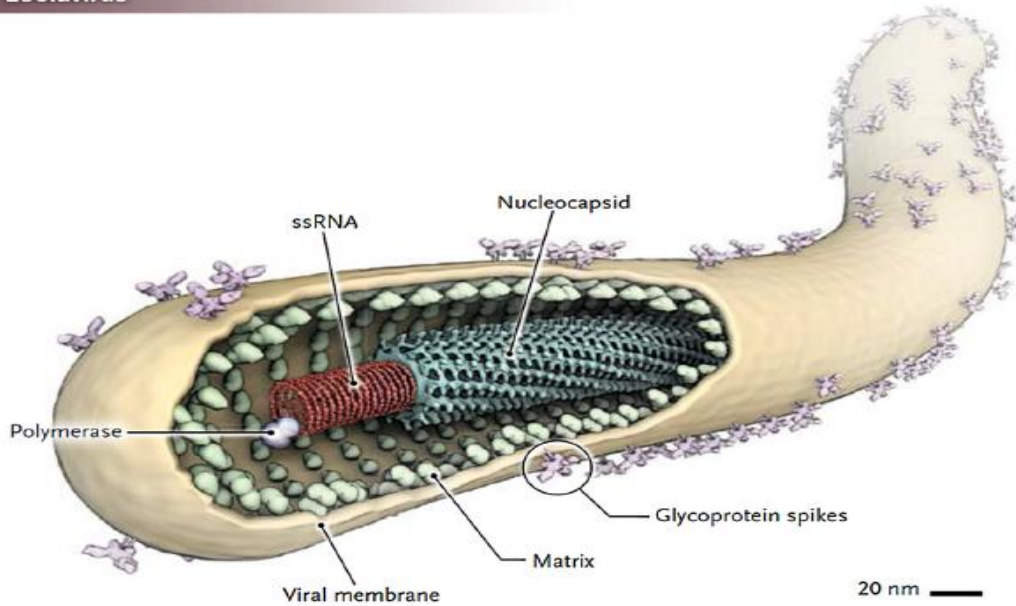


Figura 2-Estrutura do *Ebolavirus*;

Pode observar-se a forma filiforme característica, bem como, o genoma de RNA de cadeia negativa que se encontra no centro envolvido pela nucleoproteína e a respectiva RNA polimerase dependente de RNA. Na superfície da membrana observam-se as glicoproteínas da superfície da membrana. Por baixo da membrana observa-se a proteína da matriz, que facilita a morfogênese de partículas de vírus.

(Retirado de De Clercq, 2014)

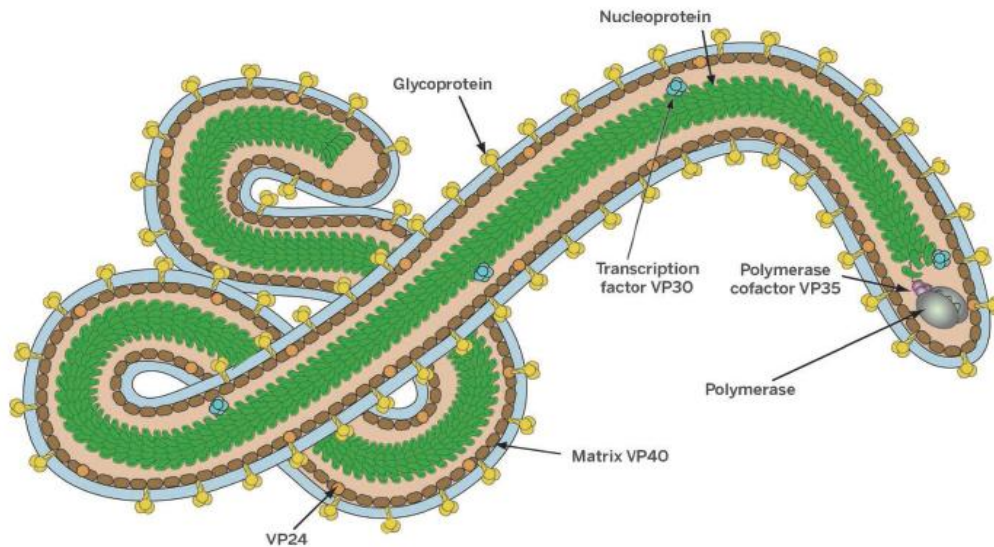


Figura 3 - Zona Viral, Constituição dos Filovírus;

Esta imagem transmite outra perspectiva do vírus podendo ser visualizada a disposição da proteína VP24, VP30, VP40 e VP35, bem como, as glicoproteínas da superfície, e a RNA polimerase.

(Retirado de Nocht, 2014)

3.2. Taxonomia

A família *Filoviridae* inclui três géneros *Marburgvirus*, *Ebolavirus* e *Cuevavirus*, sendo que os primeiros são os mais conhecidos e mortíferos, e o último foi descoberto mais recentemente (Goldsmith, 2014). Particularmente, o *Ebolavirus* e o *Marburgvirus* são importantes patógenos para a saúde pública, bem como, patógenos de bioterrorismo de categoria A (Feldman & Geisbert, 2012).

Todas as espécies de Filovírus são endémicas na África tropical, ao longo do equador, com exceção do RESTV, que se localiza nas Filipinas (Ye & Yang, 2014).

3.2.1. Marburgvirus

Este género inclui apenas uma única espécie, o *Marburg marburgvirus* a qual é representada por dois vírus divergentes, sendo o vírus Marburg e o vírus Ravn (Koehler et al., 2014; Kuhn et al., 2014). O vírus Marburg é o melhor caracterizado deste género, sendo que foram isoladas 70 estirpes, das quais a mais estudada é a estirpe “Musoke” e a estirpe “Angola”. Do vírus Ravn apenas se conhecem 3 estirpes (Kuhn et al., 2014). Foram relatados vírus Marburg com 665nm, 790nm e 860nm de comprimento (Goldsmith, 2014).

Surgiu pela primeira vez em 1967, quando trabalhadores de um laboratório de produtos biológicos em Marburg na Alemanha, foram expostos ao vírus, após contato com macacos importados que estariam infetados pelo vírus Marburg (Olival & Hayman, 2014). A taxa de letalidade deste vírus é de 24 a 88% (Goldsmith, 2014).

3.2.2. Ebolavirus

Inclui cinco espécies, cada uma das quais representada por um vírus: *Zaire ebolavirus* – vírus Ébola (EBOV), *Sudão ebolavirus* – vírus Sudão (SUDV), *Tai forest ebolavirus* – vírus Tai forest (TAFV), *Bundibugyo ebolavirus* – vírus Bundibugyo (BDBV) e por fim o *Reston ebolavirus* – vírus Reston (RESTV) (Kuhn et al., 2014; Maruyama et al., 2013). Todas estas espécies têm diferenças significativas no que toca a virulência e distribuição geográfica, nomeadamente as espécies *Zaire ebolavirus* e *Sudão ebolavirus* que são predominantemente as mais patogénicas e mais mortais (Li et al., 2015; Picazo & Giordanetto, 2014). Relativamente às divergências no genoma, os cinco membros deste género diferem em 30% (Koehler et al., 2014).

O vírus Ébola é o melhor caracterizado e foi descoberto em 1976 devido a um surto no Leste da República Democrática do Congo, tendo sido isolada a estirpe Maying (Kuhn et al., 2014; Olival & Hayman, 2014). Comparativamente ao vírus Marburg, este possui entre 805nm, 970nm e 1200 de comprimento, sendo claramente maior, bem como, a sua taxa de letalidade, que ronda 50 a 90% (Goldsmith, 2014).

O vírus Sudão é o segundo melhor caracterizado e foi igualmente descoberto devido a um surto que ocorreu em 1976, no leste do Sudão (Kuhn et al., 2014; Olival & Hayman, 2014). Foram isoladas 15 estirpes, sendo a mais estudada a estirpe Boneface (Kuhn et al., 2014). As taxas de mortalidade rondam os 40%-60% (Feldman & Geisbert, 2012).

O vírus Tai forest é o menos caracterizado e apenas se conhece uma estirpe - Pauleoula (Kuhn et al., 2014). Foi descoberto pela primeira vez em 1994, num veterinário na Costa do Marfim (Olival & Hayman, 2014).

O vírus Bundibugyo é muito pouco caracterizado e foi descoberto em 2007 no Oeste do Uganda devido a um surto que originou febre hemorrágica em humanos (Kuhn et al., 2014; Olival & Hayman, 2014). A taxa de mortalidade estimada é de 25% (Feldman & Geisbert, 2012).

O vírus Reston foi descoberto em 1989, num laboratório nos Estados Unidos da América, em macacos provenientes das Filipinas (Olival & Hayman, 2014). Foram isoladas 10 estirpes, sendo a mais estudada a estirpe Pensilvânia (Kuhn et al., 2014). Este vírus é considerado não patogénico para o homem, apesar dos testes laboratoriais documentarem ocorrência de infeção. No entanto, revela-se muito patogénico para os macacos da espécie *Cynomolgus* (Feldman & Geisbert, 2012; Koehler et al., 2014).

3.2.3. Cuevavirus

Este género inclui apenas uma espécie, a *Lloviu Cuevavirus* e é designado pelo vírus Lloviu (LLOV). Este vírus foi descoberto em 2002, tendo sido detetado nos pulmões, fígado e baço em carcaças de morcegos encontradas na caverna Cueva del Lloviu, em Espanha. Após a análise, sugeriu-se que os morcegos tinham morrido de pneumonia viral, e após posterior triagem do patogénio percebeu-se que tinham sido infetados pelo vírus Lloviu. É filogeneticamente distinto dos outros Filovírus, propondo-se pertencer a um novo género *Cuevavirus*. Contudo, as suas propriedades biológicas e a sua patogenicidade ainda são desconhecidas (Maruyama et al., 2013;

Olival & Hayman, 2014). Até à data não são conhecidas infeções em primatas não humanos e humanos (Roddy, 2014).

Estas classificações taxonómicas estão em constante mudança e baseiam-se tanto em propostas formais como pela análise de peritos do Comité Internacional da Taxonomia de Vírus (ICTV) (Olival & Hayman, 2014). Olival (2014) considera importante ter sistemas de classificação flexíveis e rápidos para avaliar a taxonomia de novas estirpes no local onde estas surjam, consoante o crescimento de conhecimento da diversidade de Filovírus.

Estima-se que a família *Filoviridae* tenha um ancestral comum com 10.000 anos, em que o *Reston Ebolavirus* e o *Zaire Ebolavirus* possuem um ancestral comum há 50 anos atrás, enquanto que o *Marburg Marburgvirus* e o *Sudão Ebolavirus* têm antepassados comuns de há 1.000 anos atrás (Olival & Hayman, 2014).

A tabela 1 resume o que foi descrito anteriormente.

Tabela 1- Taxonomia dos Filovírus;

Esta tabela discrimina minuciosamente a taxonomia da família *Filoviridae* (Adaptado de Kuhn et al., 2014)

| |
|--|
| Actual Taxonomia e Nomenclatura |
| Ordem: <i>Mononegavirales</i> |
| Família: <i>Filoviridae</i> |
| Género: <i>Marburgvirus</i> |
| Espécie: <i>Marburg marburgvirus</i> |
| Vírus 1: Marburg (MARV) |
| Vírus 2: Ravn (RAVV) |
| Género: <i>Ebolavirus</i> |
| Espécie: <i>Tai Forest ebolavirus</i> |
| Vírus: Tai Forest (TAFV) |
| Espécie: <i>Reston ebolavirus</i> |
| Vírus: Reston (RESTV) |
| Espécie: <i>Sudão ebolavirus</i> |
| Vírus: Sudão (SUDV) |
| Espécie: <i>Zaire ebolavirus</i> |
| Vírus: Ebola (EBOV) |
| Espécie: <i>Bundibugyo ebolavirus</i> |
| Vírus: Bundibugyo (BDBV) |
| Género: <i>Cuevavirus</i> |
| Espécie: <i>Lloviu cuevavirus</i> |
| Vírus: Lloviu (Llov) |

4. TRANSMISSÃO

4.1. Reservatório

Desde 1967, quando surgiu pela primeira vez um surto de Filovírus em humanos, nomeadamente com o vírus Marburg, a sua origem e ecologia permaneceram incógnitas durante várias décadas, tendo sido, apenas em 2001, evidenciado diretamente, através de estudos de campo, que os morcegos poderiam ser os hospedeiros reservatórios para os Filovírus. Desde então tem sido feita pesquisa no sentido de compreender o papel que os morcegos desempenham na manutenção, transmissão e evolução dos mesmos (Olival & Hayman, 2014).

A relação epidemiológica entre os morcegos e os Filovírus surge quando os surtos ocorreram em cavernas de exploração minéria, sendo também habitat de morcegos (Olival & Hayman, 2014). Este facto foi evidenciado, quando em 1996, se infetou experimentalmente uma ampla gama de hospedeiros com *Ebolavirus e Marburgvirus*, onde apenas se destacou o morcego por se ter verificado replicação do vírus, sobrevivendo à infeção e eliminando assim outras possíveis suspeitas de reservatórios (como os ratos, ratazanas ou os musaranhos) (Olival & Hayman, 2014).

Em 2001 e 2003 foram capturadas três espécies de morcegos frugívoros durante surtos de vírus Ébola no Gabão e República Democrática do Congo, verificando-se evidências de infeção assintomática nestes. De facto, foi detetado RNA viral no baço e fígado de alguns destes morcegos, bem como, anticorpos específicos anti-EBOV no soro de outros, indicando uma recente infeção, pelo que ainda não teria desenvolvido resposta imunitária no primeiro caso (Groseth et al., 2007).

Em 2005, foram detetados também anticorpos específicos anti-Ebolavirus e RNA viral em três espécies de morcegos frugívoros, e ao longo destes anos têm sido detetados em muitas outras espécies de morcegos frugívoros (Olival & Hayman, 2014).

Alguns investigadores demonstraram que podia ser induzida virémia em morcegos infetados com *Marburgvirus* e o RNA viral podia ser detetado entre o 2º a 9º dias após a infeção bem como a deteção de anticorpos da classe IgG entre 9 a 21 dias após a infeção. O RNA viral do vírus Marburg pode ser detetado no pulmão, intestino, rim, bexiga, glândulas salivares e trato reprodutivo feminino. Nenhum destes morcegos apresentou sinais clínicos nem foi observada patologia grave. Também neste estudo se demonstrou que o vírus não provocou infeção quando inoculado via oral ou intra-nasal

ou até mesmo através de secreções, tendo-se obtido resultados apenas quando inoculado intra-dérmico e intra-peritoneal (Olival & Hayman, 2014).

Desta forma, os morcegos, nomeadamente as espécies *Hypsignathus montrosus*, *Myonycteris torquata* e *Rousettus aegyptiacus* são considerados os principais reservatórios para o *Ebolavirus*, todos pertencentes à família *Pteropodidae*, sendo morcegos de frutos e as espécies *Rhinolophus eloquens* e *Miniopterus inflatus* para o *Marburgvirus*, enquanto que para o *Cuevavirus* o reservatório é um morcego europeu da espécie *Miniopterus schreibersii* (Ansari, 2014; Martines, Ng, Greer, Rollin, & Zaki, 2015; Olival & Hayman, 2014; Pancer, 2015).

4.2. Transmissão Reservatório - Hospedeiro-alvo

Esta via de transmissão é zoonótica porém é ainda incerta, muito devido ao desafio dos estudos experimentais em laboratórios BSL-4 com agentes como os Filovírus. Embora, existam muitas dificuldades inerentes à realização de tais estudos, incluindo situações extensas de campo, instalações BSL-4, e as questões éticas, estes são uma prioridade para se perceber os mecanismos de transmissão entre morcegos e espécies-alvo como porcos e primatas (Goeijenbier et al., 2014; Olival & Hayman, 2014).

Apesar destas limitações, vários autores têm especulado que os frutos comidos parcialmente pelos morcegos, poderão ficar contaminados pelos Filovírus e posteriormente os mamíferos terrestres ao comerem estes frutos poderão ficar infectados, esta suspeita terá tido início quando em Bangladesh, através da vigilância por vídeo que detetou morcegos em contato direto com a seiva de palmeira, tendo sido a relação epidemiológica com a infeção por Vírus Nipah (NiV) em humanos, e os estudos mostraram que o NiV pode sobreviver na superfície da manga até 2 dias. Estes dados confirmam os altos títulos de EBOV em frutos contaminados experimentalmente sugerindo a potencial transmissão através dos mesmos (Groseth et al., 2007; Olival & Hayman, 2014). Ao mesmo tempo, foi encontrada uma soroprevalência de IgG específica do EBOV de 15.3% entre as populações humanas rurais, sugerindo uma fonte comum de exposição humana, tais como estes frutos contaminados (Roddy, 2014).

Apesar destas evidências, ainda é tudo especulativo, terá que se investir bastante mais em vigilância tecnológica para se esclarecer, de facto, as vias de transmissão nos sistemas Filovírus-morcegos (Olival & Hayman, 2014).

É também importante, estudar a sazonalidade dos factores fisiológicos, ambientais e temporais, que possam facilitar a replicação do vírus, e subsequente transmissão para outros hospedeiros suscetíveis (Groseth et al., 2007).

Há evidência de que o aumento da mortalidade de macacos infetados com EBOV pode ocorrer no final da estação das chuvas e/ou início do período seco, sugerindo que as mudanças sazonais podem forçar diferentes espécies a uma maior proximidade por competirem por alimento, bastante escasso na altura da chuvas, mas bastante abundante de frutas no início do período seco, sugerindo o aumento da interação entre as espécies. Como consequência, desta sazonalidade vão existir por um lado alterações imunológicas provocadas pelo stress causado pela escassez de alimento, e por outro lado alterações fisiológicas como o acasalamento animal característico da abundância de alimento (Groseth et al., 2007).

Estas mudanças poderão estar associadas aos surtos, por facilitarem de alguma forma a replicação do vírus através de comportamentos agressivos intra e inter- espécie de morcegos, e através da gravidez, tendo sido já demonstrado que os morcegos adultos e o morcego fêmea fecundado tem maiores taxas soroprevalência que os morcegos juvenis (Groseth et al., 2007; Ng, Basta, & Cowling, 2014). Esta constatação indica que durante estas estações o combate e o acasalamento entre os morcegos poderá estar associado à transmissão de Filovírus e a migração sazonal dos morcegos pode resultar num aumento do contato com os seres humanos e outros animais (Ng et al., 2014). Esta evidência foi já demonstrada, em 2007 no decorrer de um surto na RDC, através de uma investigação que ligou o primeiro caso humano ao contato com morcegos migratórios, isto poderá explicar o surto recente, sendo o primeiro na região oeste Africana (Ng et al., 2014).

Os picos de mortalidade observados em chimpanzés e gorilas devido ao EBOV coincidem com alguns focos anteriores observados em humanos, sendo que estes surtos em primatas não humanos ocorreram principalmente no final da época das chuvas (Ng et al., 2014).

Sabe-se apenas, que os chimpanzés residentes RDC, Gabão e Camarões têm níveis elevados de soroprevalência de imunoglobulina G específica do EBOV, sugerindo, que este circula continuamente e com persistência a longo prazo nestas regiões de florestas tropicais da África sub-sariana, causando infeções letais e não letais em primatas não humanos (Roddy, 2014). Está já demonstrado que os Filovírus poderão ser transmitidos através do contato direto com estes animais infetados, ou através das

suas carcaças, evidenciado pelo consumo de carne de caça (Meyers, Frawley, Goss, & Kang, 2015).

Outra abordagem estará relacionada exatamente com o descrito anteriormente, os habitantes das aldeias florestais rurais africanas, comem sobretudo carne de caça, como macacos ou até mesmo morcegos, podendo estes estarem infetados ou serem portadores do vírus, de facto, os surtos de EBOV também são responsáveis pela morte maciça de primatas não humanos, nas regiões dos surtos humanos, em África (Feldman & Geisbert, 2012; Ye & Yang, 2014). Apesar da cozedura adequada destes alimentos inativar o vírus, esta ideia não pode ser totalmente descartada como uma possível via de transmissão aos humanos (Feldman & Geisbert, 2012).

De facto, até ao momento, todos os surtos de Filovírus que provocam doenças humanas, excluindo os surtos acidentais em laboratórios BSL-4, podem ser rastreados até às regiões de florestas tropicais (Roddy, 2014).

Numa outra abordagem, incluíram-se animais de estimação e domésticos para se perceber se poderiam ter contato com Filovírus, dando-se especial atenção aos cães, uma vez que estes, nas aldeias africanas, comem carcaças de animais locais encontrados nas imediações destas aldeias, bem como, restos de órgãos de animais caçados para alimentarem os habitantes locais. Apesar desta via de transmissão ainda não estar documentada, o comportamento e alimentação dos cães é sugestivo da propagação da infeção. Foram alcançados resultados surpreendentes relativamente à soroprevalência de IgG anti-EBOV em 3 populações de cães bem distintas, sendo eles provenientes de uma cidade africana, na qual nunca foram relatados casos de EBOV; de uma cidade africana onde foram relatados casos esporádicos; e de uma aldeia florestal rural onde uma epidemia de EBOV terá ocorrido, tendo como grupo de referencia 100 cães de França. Foram observados IgG anti-EBOV em 9% dos cães da cidade africana onde nunca foram relatados casos de EBOV; em 15% dos cães da cidade africana onde foram relatados casos esporádicos; e em 25% dos cães da aldeia rural onde terá tido início uma epidemia de EBOV, estes resultados sugerem que a atividade do EBOV está refletida na prevalência de anticorpos em cães. Concluindo-se assim que há uma falta de dados sobre o papel de animais assintomáticos, para além dos morcegos, na transmissão do vírus para os seres humanos, e a falta de tais observações durante os surtos relatados até agora sugere, que o papel dos animais assintomáticos poderá estar associado à transmissão da infeção para o primeiro caso do surto, ou mesmo na progressão da doença (Pancer, 2015).

Esta via de transmissão, através de animais domésticos, já teria sido relatada quando macacos importados das Filipinas para os EUA infetaram humanos com o RESTV, apesar de, este não ser patogénico para os seres humanos. Também em 2008 esta evidência foi demarcada quando foram relatados casos infecção de RESTV em porcos das Filipinas (Pancer, 2015). Esta evidência levanta preocupações a nível de saúde pública, na medida em que, a agricultura e a segurança alimentar nas Filipinas poderá transformar-se num problema sério nestas regiões da Ásia (Feldman & Geisbert, 2012).

A figura 4 representa desta forma a incerteza desta via via de transmissão sugerindo algumas transmissões anteriormente descritas.

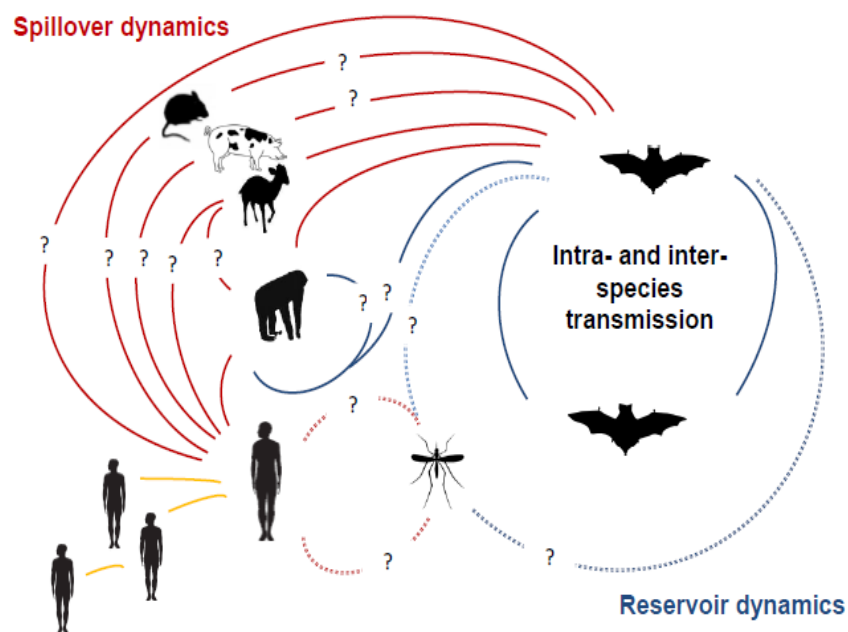


Figura 4- Hipóteses da transmissão da infecção por Filovírus;

Através desta imagem constata-se que ainda é tudo baseado em suposições, pode-se observar que o morcego, bem como, outros potenciais reservatórios como os primatas não humanos e os insetos estão em linha azul. Os insetos são considerados vectores pouco prováveis, no entanto, não são descartados (linha azul tracejada). As vias com incerteza epidemiológica são mostradas com pontos de interrogação. As epidemias de repercussão em animais domésticos e primatas não humanos poderão estar envolvidas na transmissão humana e encontram-se com linha vermelha. A transmissão humana a humano encontra-se a laranja;

(Retirado de *Olival & Hayman, 2014*)

4.3. Transmissão Humano-Humano

Esta transmissão já é bem mais conhecida, sendo feita através do contato próximo com fluídos como o sangue, saliva, vômito, diarreia, sémen ou através de tecidos, como fissuras da pele ou nas mucosas a partir de doentes infetados (Meyers et al., 2015).

Também pode acontecer infecção nosocomial através da utilização de seringas não esterilizadas, agulhas ou outro equipamento médico contaminado. O meio hospitalar tem sido palco de grandes epidemias, pois em grandes áreas urbanas e desfavorecidas, como acontece em África, há grandes desafios no que toca às instalações de saúde, representando assim um importante potencial de amplificação do surto e de novas linhas de transmissão (Bah et al., 2015; Centers for Disease Control and Prevention, 2014). Em seres humanos, a via de transmissão pode afetar o curso da doença, demonstrado já que em infeções relacionadas com injeções como a que ocorreu em 1976, levou a 100% de mortalidade, em comparação com cerca de 80% em casos de exposição de contato próximo (Feldman & Geisbert, 2012).

As mulheres grávidas infetadas têm um risco aumentado de aborto espontâneo, sugerindo assim a transmissão vertical, bem como existem altas taxas de mortalidade em crianças que estão a ser amamentadas, sugerindo que há transmissão através do leite, ou apenas por contato próximo (Feldman & Geisbert, 2012). Uma mulher infetada com Filovírus que está a amamentar, deve parar imediatamente de o fazer. Neste caso, o leite materno deve ser testado a cada 3 a 7 dias e só deve retomar a amamentação quando o teste de PCR do leite materno der negativo (World Health Organization, 2015c).

Os Filovírus são patogéneos de categoria A de potencial, o que lhe confere perigo, mesmo na execução de autópsias e biopsias, podendo portanto, esta ser uma potencial via de transmissão. Por esse mesmo motivo, existe um pequeno número deste tipo de exames, o que poderá esconder os verdadeiros números de casos infetados por Filovírus (Martines et al., 2015).

Um indivíduo infetado poderá transmitir o vírus logo que apresente os primeiros sintomas da doença, continua a ser infeccioso, mesmo durante a progressão da doença, bem como após a morte. De facto, foram documentadas transmissões do vírus associadas aos rituais fúnebres característicos destas regiões (Goeijenbier et al., 2014; Martines et al., 2015).

Embora em laboratório o vírus demonstre alguma capacidade de infectar através de pequenas partículas de aerossóis, a disseminação por via aérea entre pessoas não foi claramente comprovada (Centers for Disease Control and Prevention, 2015d).

Na figura 5 está sugerido todo o ciclo de transmissão do vírus.

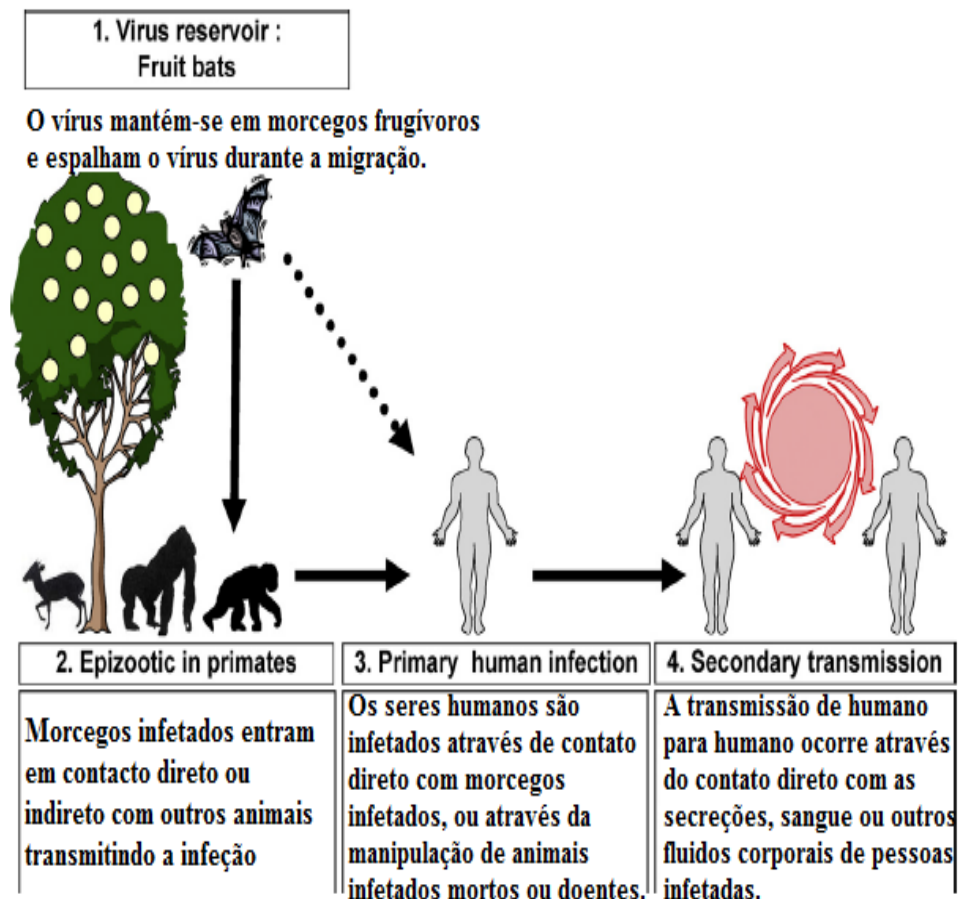


Figura 5- Transmissão da infeção de Filovírus

(Retirado de *Formenty, 2014*)

5. FISIOPATOLOGIA DA INFEÇÃO POR FILOVÍRUS

O Filovírus entra no hospedeiro através de abrasões nas superfícies das mucosas ou da pele ou por injeção acidental, compreendendo três fases distintas na infecção celular: adesão celular, endocitose e fusão (Martines et al., 2015). Após a transmissão para um novo hospedeiro, vários tipos de células são afetados, incluindo células do sistema imunitário, células endoteliais, hepatócitos, células do córtex da medula suprarrenal e células epiteliais, como representado na figura 6. No entanto, acredita-se que tem preferência por células mononucleares como macrófagos, monócitos e células dendríticas na fase inicial da infecção para que a replicação seja rápida (Li et al., 2015; Meyers et al., 2015).

O Filovírus, vai provocar a lesão do endotélio através da glicoproteína não estrutural (sGP), sendo esta, um dos principais fatores que causam danos às células endoteliais, levando à permeabilidade e consequente anomalia de coagulação.

Relativamente à resposta imunitária, o vírus ataca diversas vias, o que lhe permite a replicação rápida e conferindo-lhe assim alto grau de letalidade (Meyers et al., 2015; Pancer, 2015).

O início da enorme replicação do vírus ocorre devido às proteínas deste que antagonizam a resposta do interferão do hospedeiro, nomeadamente a VP24, que vai atuar na expressão do interferão, e a VP35 inibe a ativação de outras respostas antivirais produzidas na célula do hospedeiro (Li et al., 2015). Esta inibição inicial da resposta do interferão parece ser uma característica fundamental da patogénese do vírus (Feldman & Geisbert, 2012).

Concomitantemente, as citocinas libertadas pelas células infetadas do hospedeiro vão recrutar mais células mononucleares para o ponto inicial da infecção, levando à apoptose das mesmas e amplificando a infecção, enquanto os viriões são sistematicamente espalhados pela corrente sanguínea. Ainda que o vírus não seja capaz de infetar diretamente os linfócitos, a perda funcional e quantitativa progressiva de células dendríticas e de macrófagos, levam à apoptose linfocítica aguda. A agravação da inflamação ao nível das células vai levar à vasodilatação dos tecidos internos e externos e consequentemente ao sangramento dos mesmos. Ao infetar os hepatócitos, o vírus vai provocar danos no fígado e consequentemente mais caos no sistema de coagulação. Esta anomalia da coagulação ocorre, assim, através de uma combinação do dano e necrose

hepático com a necrose de células arenocorticais, bem como diminuição dos fatores de coagulação e outras proteínas do plasma, o que leva à coagulação intravascular disseminada (Li et al., 2015; Martines et al., 2015; Pancer, 2015).

O córtex da suprarrenal tem um papel importante no controlo da pressão sanguínea, e o funcionamento anómalo deste resulta numa hipotensão grave e perda de sódio (Pancer, 2015).

A infeção leva a uma espiral destrutiva, à medida que o vírus se propaga pela corrente sanguínea e órgãos e, caso esta não seja controlada os doentes facilmente sucumbem por falha de órgãos ou por infeção bacteriana (Li et al., 2015).

A infeção por este tipo de vírus é assim caracterizada pela alta produção de citocinas pró-inflamatórias, imunossupressão grave do hospedeiro, virémia rápida e manifesta-se frequentemente sob a forma de febre hemorrágica fulminante (Picazo & Giordanetto, 2014).

Embora a carga viral e as lesões necróticas sejam elevadas, existe pouca inflamação nos tecidos e órgãos afetados, indicando uma resposta imune desregulada (Martines et al., 2015). Em contrapartida, quando a resposta inflamatória imune é precocemente regulada têm sido associados à sobrevivência de doentes infetados (Feldman & Geisbert, 2012).

Estas lesões necróticas são multifocais e encontram-se sobretudo no fígado, baço, rins, testículos e ovários, e particularmente no fígado, foi observada a apoptose dos hepatócitos, esteatose, e hiperplasia das células kupffer. Relativamente a outros órgãos, como os pulmões, foram observadas lesões hemorrágicas difusas (Pancer, 2015).

Na figura 7 está sugerido o ciclo de transmissão, bem como, está representado o início da infeção.

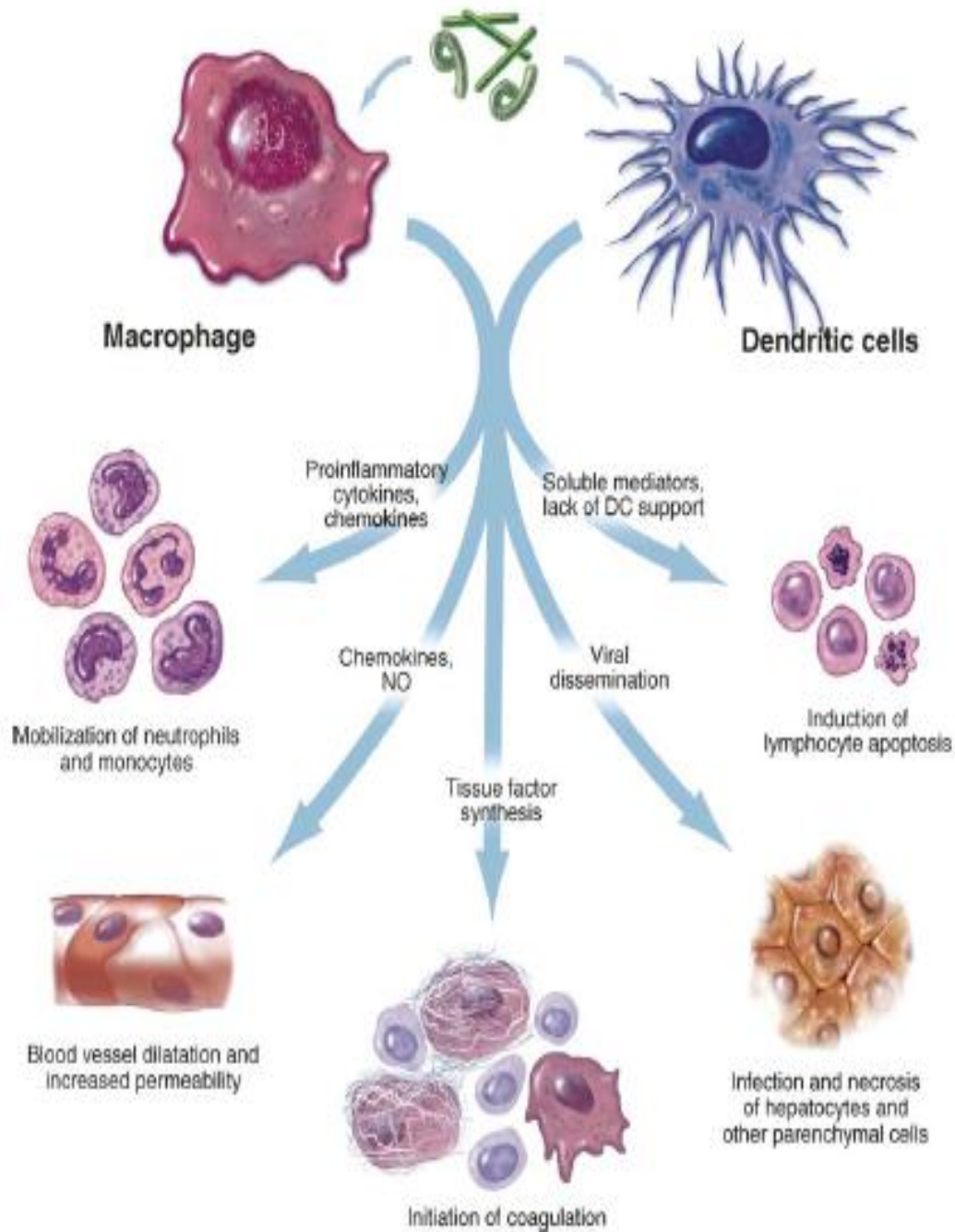


Figura 6- Início da infecção do Filovírus;

Os Filovírus têm preferência por macrófagos e células dendríticas e estes desempenham um papel importante na indução das características clínicas da doença, as citocinas e outros mediadores libertados vão alterar a função dos vasos sanguíneos e provocar um influxo de células inflamatórias, incluindo os monócitos e outros macrófagos para o local da infecção, enquanto que a síntese de fator tecidual de superfície celular contribui para a coagulopatia sistémica. O vírus é libertado pelos macrófagos infetados espalhando-se para outras células e órgãos, resultando em necrose do tecido multifocal. A capacidade de o hospedeiro desenvolver resposta imune adaptativa eficaz é muito baixa devido à apoptose massiva de linfócitos.

(Retirado de *Bray & Geisbert, 2005*)

5.1. Sintomatologia

A fase inicial é extremamente inespecífica podendo ser confundida facilmente com diversas doenças, como por exemplo a malária, febre da lassa, cólera ou febre tifóide (Martines et al., 2015; Meyers et al., 2015). É caracterizada por um síndrome gripal, nomeadamente, com febre alta repentina, mal-estar geral, faringite, dor da cabeça, mialgia profusa, após um curto espaço de tempo é caracterizada por vômitos, diarreia, anorexia, dor abdominal, infeção conjutival, dor no peito, dispneia, tosse, rinorreia, hipotensão, confusão (Li et al., 2015; Martines et al., 2015; Meyers et al., 2015; Pancer, 2015). Seguidamente após 3 a 5 dias ocorre hemorragia inexplicada como hemoptises, melena, na mucosa e no trato geniturinário, ocorre ainda anúria, taquipnea, insuficiência renal e hepática, encefalopatia, falência de múltiplos órgãos, hipovolemia que por fim, complica-se com o choque séptico e pela coagulação intravascular disseminada (Li et al., 2015; Martines et al., 2015; Meyers et al., 2015). Por vezes, entre o 7º a 5º dia após o início dos sintomas pode ser observado um eritema maculopapular que normalmente é seguido de descamação, este é um sintoma importante, uma vez que, está associado à sobrevivência dos doentes infetados (Feldman & Geisbert, 2012).

Todos estes sintomas são acompanhados por prurido, uma perda extrema de fluídos e electrólitos, desenvolvendo rápida anorexia e hipoxémia (Bah et al., 2015; Pancer, 2015; Shah, Wendler, & Danis, 2015). As pessoas infetadas que desenvolvem um quadro clínico rápido e severo normalmente morrem dentro de 6 a 16 dias. Por outro lado, os que resistem após 2 semana tendem a sobreviver à infeção (Goeijenbier et al., 2014; Martines et al., 2015; Meyers et al., 2015). Neste caso, os sintomas dos sobreviventes tendem a desaparecer gradualmente após 5 a 7 dias. Acredita-se que se um paciente infetado sobreviver mais de 10 dias após o aparecimentos dos sintomas, é indicativo de um prognóstico positivo (Pancer, 2015). No entanto, os que sobrevivem podem apresentar sequelas como, mielite, hepatite recorrente, psicose, artralgias, doenças oculares, zumbido permanente, pericardite, otite e parótida supurativa, perda de cabelo prolongada e uveíte (Feldman & Geisbert, 2012; Goeijenbier et al., 2014; Meyers et al., 2015).

Ainda por explicar está o facto de alguns indivíduos serem infetados mas permanecerem assintomáticos enquanto outros desenvolvem doença grave, muito embora, se suspeite de uma interação complexa no sistema vírus-hospedeiro (Meyers et

al., 2015). A sobrevivência de doentes infetados está associada à resposta de anticorpos, nomeadamente, imunoglobulina G específica anti-EBOV, em contrapartida, nos doentes que sucumbem os níveis de IgG são 100 vezes mais baixos, ou mesmo indetectáveis, revelando elevados níveis de virémia e elevados níveis de citocinas pró-inflamatórias, sugerindo assim, que existe uma correlação entre estes níveis e a severidade da doença (Goeijenbier et al., 2014; Pancer, 2015).

5.2. Período de incubação

O período de incubação varia de 2 a 21 dias, porém a maioria dos doentes tornam-se sintomáticos após 5 ou 9 dias no caso do *Marburgvirus*, e 3 a 12 dias no *Ebolavirus*, sendo infecciosos a partir do momento em que apresentam sintomatologia (Li et al., 2015; Meyers et al., 2015; World Health Organization, 2014a). No caso, de pessoas infetadas a nível intramuscular através de seringas, a média do período de incubação é 6 dias, enquanto infetados através do contato próximo, a média de incubação é 8 dias (Joel G. Breman, M.D., D.T.P.H., and Karl M. Johnson, 2014).

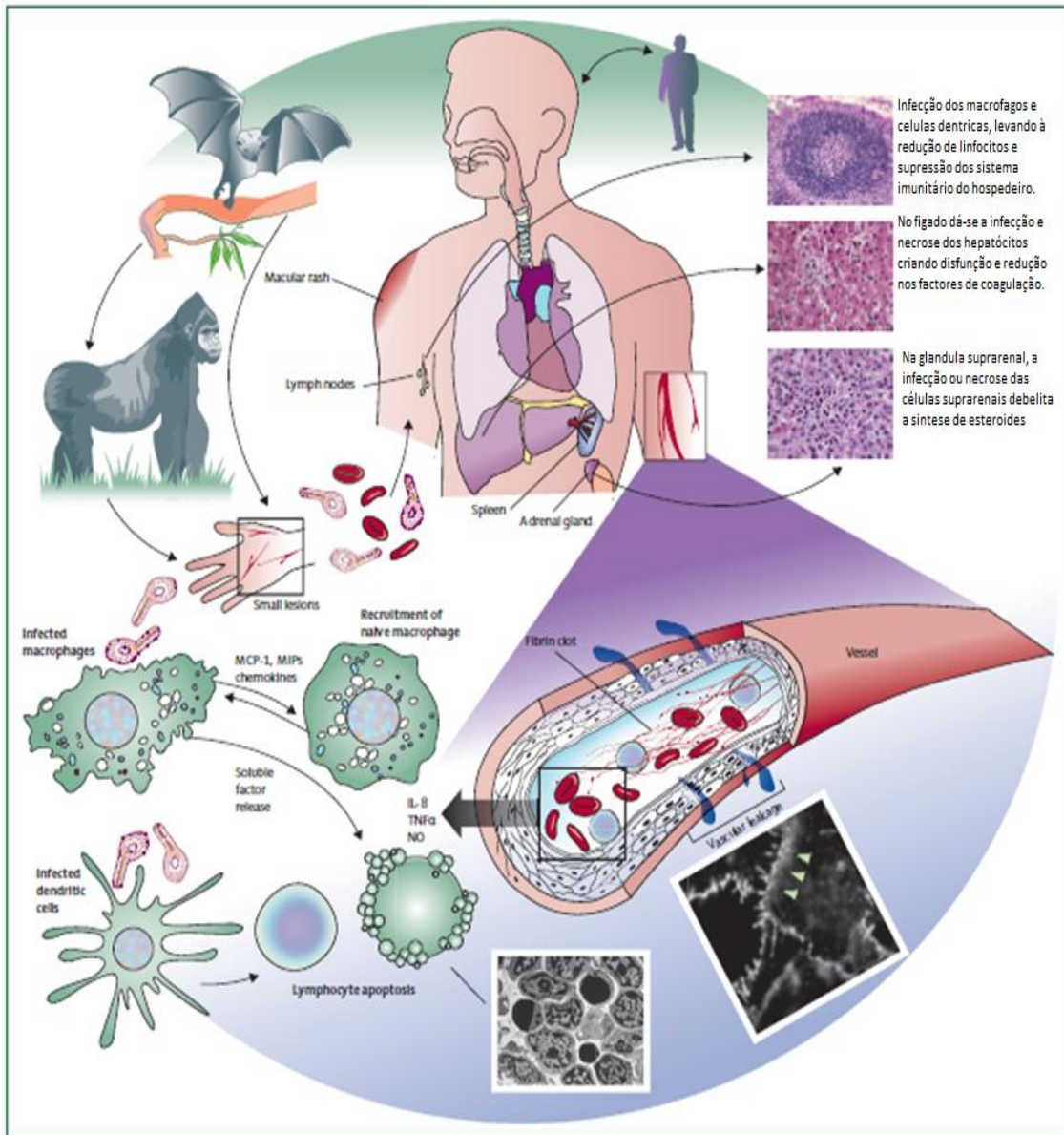


Figura 7- Modelo de transmissão e início da infeção de Filovírus;

O Vírus espalha-se a partir do local da infeção inicial (pequenas lesões) para o fígado e o baço. Embora o vírus não infete linfócitos, estes sofrem apoptose e conseqüentemente existe uma perda rápida dos mesmos. A perda substancial de linfócitos, provavelmente, resulta de uma combinação de fatores, incluindo a disfunção mediada pela infeção de células dendríticas, monócitos e macrófagos. Fatores solúveis libertados pelas células alvo, contribuem para o comprometimento do sistema vascular. A disseminação sistémica e replicação do vírus, resulta na desregulação geral da resposta imune do hospedeiro, nas alterações da coagulação, no comprometimento do sistema vascular e hipotensão e, finalmente, pode resultar em choque e falência de múltiplos órgãos.

(Adaptado de *Feldmann & Geisbert, 2011*)

6. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico precoce e preciso de uma infecção por qualquer um dos Filovírus é crucial para se iniciarem os protocolos de isolamento adequados (Meyers et al., 2015).

Se houver suspeita de infecção por Filovírus, este tem que ser confirmado laboratorialmente, caso contrário o possível surto poderá permanecer especulativo e não é reconhecido, nem declarado pela OMS (Roddy, 2014)

Atualmente os métodos de diagnóstico mais utilizados na ocorrência de um surto são o PCR em tempo real e/ou o rastreamento rápido através de ensaios ELISA.

Um fator importante a considerar, sobre qual o método de diagnóstico a utilizar é a diversidade de agentes que circulam numa determinada região geográfica. Atualmente está em desenvolvimento uma tecnologia, denominada Next Generation Sequencing (NGS) que teoricamente pode identificar qualquer agente patogénico, numa amostra, o que por um lado é uma importante ferramenta para se identificar mais rápido o tipo de surto, por outro lado, torna a sua aprovação mais difícil pela FDA por ser pouco específica (Koehler et al., 2014).

Na tabela 2 estão representados os métodos de diagnóstico usualmente realizados tendo em conta o tempo de infecção.

6.1. Diagnóstico Laboratorial

As alterações dos parâmetros laboratoriais que conduzem ao diagnóstico são: a nível hematológico: trombocitopenia, leucopenia, anemia, anomalias na coagulação como a elevação do tempo de protrombina e a ativação do tempo parcial da tromboplastina e a diminuição do fibrinogénio; a nível hepático: tansaminases elevadas como é o caso da alanina transaminase, e a aspartina transaminase; a nível renal: elevados níveis de creatinina, proteinúria e hematuria; e por fim, a nível metabólico: baixo nível de cálcio (<6mg/dl), sendo este o maior preditor de um mau prognóstico (Meyers et al., 2015).

6.2. Testes da Malária

Estes testes devem ser realizados, porém exigem sangue espesso e esfregaços finos (Meyers et al., 2015).

O teste da malária deve ser sempre feito, uma vez, que esta doença é extremamente endémica nestes países da África e os sintomas da malária e de filovirose são muito semelhantes, devendo descartar-se a hipótese de malária (World Health Organization, 2014a).

6.3. Teste rápido para detecção de Antígeno Viral

O antígeno viral e o ácido nucleico podem ser detetados no sangue a partir do início dos sintomas, até 2 a 3 dias após o início dos sintomas (Martines et al., 2015; Pancer, 2015).

Atualmente o teste do antígeno viral está disponível numa versão semelhante a testes de gravidez, tornando-se assim mais rápidos, podendo ser realizados em qualquer lugar e sem equipamentos auxiliares, proporcionando resultados em 2 a 25 minutos (Meyers et al., 2015; World Health Organization, 2015d). Embora sejam fáceis de manusear geram frequentemente falsos positivos, tendo assim uma baixa sensibilidade (World Health Organization, 2015d).

Foram utilizados durante muitos anos os testes de detecção de antígenos através do formato ELISA, sendo estes sensíveis quando estão presentes altos níveis de vírus, embora estes testes não estão disponíveis comercialmente pois exigem infra-estrutura laboratorial e cientistas qualificados para realizar os ensaios (World Health Organization, 2015d).

6.4. Isolamento do vírus em culturas celulares

A presença de Filovírus pode ser detetada após o início dos sintomas, em amostras de fluídos corporais até 20 dias após o início da infecção, enquanto que em amostras de fezes ou semén pode ser detetada até 4 e 13 dias, respetivamente, após o início da infecção (Pancer, 2015).

Estas amostras são consideradas altamente infecciosas, e por isso, devem ser tomadas medidas de proteção adequadas, e só depois de estas estarem inativadas é que podem ser manipuladas em laboratórios BSL-2 (Pancer, 2015). Esta inativação normalmente faz-se através de radiação de raios gama, ou através de calor (Feldman & Geisbert, 2012).

6.5. Coloração Imuno-histoquímica

Este teste só pode ser realizado em doentes falecidos, limitando assim a sua relevância clínica para o diagnóstico precoce (Meyers et al., 2015).

Este método pode ser realizado com amostras hepáticas, uma vez que o Filovírus ataca particularmente os hepatócitos, provocando necrose. Ao ser analisado um fígado infetado é possível ver inclusões de vírus filamentosos ou ovais.

Ao nível do pulmão, o exame microscópico, mostra congestão edema intra-alveolar e hemorragia sem inflamação significativa. A coloração imuno-histoquímica revela antígenos virais em macrófagos alveolares, células endoteliais e em fibroblastos.

Ao nível do baço a imunocoloração viral, mostrou células do sistema mononuclear, sistema fagocitário, células dendríticas e fibroblastos.

Ao nível da pele a imuno-histoquímica revela antígenos nas células dendríticas epidérmicas, células endoteliais, tecido conjuntivo, e fibroblastos. Também pode ser detetado no epitélio das glândulas sebáceas e sudoríparas.

Ao nível do trato gastro intestinal são detetados antígenos nas células mononucleares, em macrófagos, fibroblastos, células necróticas, e fibras reticulares.

Ao nível da medula óssea foi detetado um número normal de megacariócitos, concluindo-se então, que a trombocitopenia característica destas infeções não está relacionada com a redução na produção de plaquetas (Martines et al., 2015).

6.6. Reação de polimerização em cadeia em tempo real – PCR-TR

O PCR-TR é atualmente o método de diagnóstico mais rápido, podendo ser usado para um diagnóstico precoce. Foi demonstrada a sua sensibilidade em 100%, e a sua especificidade de 97% (Martines et al., 2015).

Este apresenta uma vantagem importante em relações a outros métodos durante uma epidemia, pois deteta o ácido ribonucleico viral logo no início da infeção, enquanto que por exemplo as IgM são detetadas mais tarde e as IgG ainda mais tarde (Martines et al., 2015; Meyers et al., 2015).

O PCR-TR deteta o Filovírus no sangue, a partir de 3 a 10 dias após o aparecimento dos primeiros sintomas, e deteta vários meses após a infeção, em determinadas secreções (Martines et al., 2015; Meyers et al., 2015).

Este método é capaz de distinguir as diferentes espécies de Filovírus e pode ser usada uma grande variedade de tecidos e amostras com fluídos. No entanto, estes métodos através de PCR são complexos de executar (World Health Organization, 2015d).

6.7. Serologia

Os anticorpos IgM são detetáveis 2 dias após o início dos sintomas e desaparecem ao fim de 30 a 168 dias após a infeção, enquanto que os anticorpos IgG só se podem detetar ao fim de 4 a 18 dias após o início dos sintomas e persistem até 3 a 5 anos (Goeijenbier et al., 2014; Martines et al., 2015; Pancer, 2015). Tendo em conta que a maioria dos doentes morrem ao fim de 10 dias, os títulos de IgG são determinados em exames retrospectivos (Pancer, 2015).

Os anticorpos IgG são frequentemente detetados utilizando o ensaio ELISA ou outro teste semelhante, enquanto que os IgG neutralizantes são apenas testados pelo ensaio de neutralização exclusivamente em laboratórios do tipo BSL-4 e por este motivo anticorpos deste género são apenas encontrados em amostras de convalescentes (Pancer, 2015).

Os anticorpos IgG direcionados à proteína VP40 foram detetados por ensaio ELISA em pessoas que nunca revelaram sintomas indicativos do vírus EBOV, enquanto, que os anticorpos IgG direcionados para a glicoproteína não estrutural (sGP) não neutralizam o EBOV, e portanto, não são reveladores de imunidade (Pancer, 2015).

6.8. Microscopia Eletrónica

Tem sido utilizada na descoberta e descrição de vírus responsáveis por doenças infecciosas, nomeadamente, no caso dos Filovírus.

Este método foi importante na medida em que, elucidou a presença de um novo vírus no primeiro surto de MARV na Alemanha em 1967, e no primeiro surto do EBOV no Zaire, em 1976. Bem como, em 1989, nos EUA, identificou o RESTV em macacos infetados (World Health Organization, 2015d)

6.9. Hibridação in situ

Tem sido utilizado para caracterizar infeções por Filovírus em modelos animais (Martines et al., 2015).

Tabela 2- Métodos de Diagnóstico consoante o tempo de infeção
(Adaptado de Centers for Disease Control and Prevention, 2015a)

| Tempo de infeção | Testes de diagnóstico |
|---|-------------------------------------|
| Pouco tempo após o início dos sintomas | Captura de Ag – ensaio ELISA |
| | IgM ELISA |
| | Reacção em cadeia da Polimerase PCR |
| | Isolamento do vírus |
| Decorrer da doença ou após recuperação | Ac IgM e Ac IgG |
| Retrospectivamente em pacientes falecidos | Teste de imuno-histoquímica |
| | PCR |
| | Isolamento do vírus |

7. MEDIDAS DE PREVENÇÃO E CONTROLO

As equipas de resposta a surtos por Filovírus compreendem, normalmente, a primeira linha de profissionais médicos constituídos pelo Ministério da Saúde a quem compete, da OMS, Médicos sem Fronteiras (MSF), e as equipas do centro de controlo e prevenção de doenças (CDC) (Roddy, 2014).

Os objectivos primordiais destas respostas são: prevenir e controlar a propagação da doença e fornecer aos doentes infetados acompanhamento e tratamento médico apropriado; no entanto, para que se consigam atingir estes objectivos, outros têm de ser eficazes, ao nível das comunidades como, a vigilância epidemiológica para a deteção dos casos, enterro e desinfeção rápida dos corpos, redução dos riscos nas próprias casas, apoio às instalações de saúde periféricas, apoio ao nível psicossocial, campanhas de informação e educação e estudos ecológicos; e ao nível do interior das instalações de saúde, como, a conceção de uma ala isolada, o diagnóstico do caso, a deteção rápida de casos na própria equipa de profissionais de saúde, gestão de casos, atendimento psicológico e facilidade no controlo da infeção na unidade de saúde (Roddy, 2014).

Durante a propagação de um surto é extremamente importante o isolamento de indivíduos suspeitos de infeção, a utilização de vestuário apropriado e a eficaz desinfeção dos procedimentos de proteção. Todos estes passos têm demonstrado ser suficientes para interromper a transmissão e controlar o surto, visto não existir tratamento eficaz para a febre hemorrágica provocada por qualquer um dos Filovírus (Centers for Disease Control and Prevention, 2014).

O CDC e a OMS, em 1998, uniram forças e desenvolveram orientações práticas para serem usadas em meio hospitalar, intituladas como “*Infection Control for Viral Haemorrhagic Fevers in the African Health Care Setting*”, sendo este um manual de controlo de infeções causadas por febres hemorrágicas virais (Centers for Disease Control and Prevention, 2014; Roddy, 2014). Estas orientações (*guidelines*) podem ajudar os profissionais de saúde a reconhecerem casos de infeção e atuar de modo a evitar a transmissão da doença em meio hospitalar, utilizando os meios disponíveis no local e recursos financeiros escassos (Centers for Disease Control and Prevention, 2014).

Em 2008, o OMS produziu um resumo de recomendações para controlar infeções causadas por Filovírus, e nesse mesmo ano, a equipa de MSF desenvolveu uma diretriz para responder internamente aos surtos por Filovírus, fornecendo assim à sua equipa de MSF um resumo prático e objetivo, para uma melhor intervenção nestes surtos, e com lições aprendidas de surtos anteriores (Roddy, 2014).

Durante o surto de 2014, a OMS lançou uma diretriz provisória para a preparação de surtos de Filovírus, nomeadamente, no controlo, alerta e avaliação da doença; uma diretriz provisória de prevenção e controlo da infeção para o cuidado com doentes infetados por Filovírus; e uma diretriz para a segura manipulação clínica dos doentes com febre hemorrágica viral (Roddy, 2014).

Há ainda, um longo caminho a percorrer nestas diretrizes no que diz respeito à epidemiologia dos Filovírus, ecologia, modelos e procedimentos de recolha de dados, campanhas de informação e educação, definições de casos, diagnósticos laboratoriais e de tratamentos, todos exigem ainda a sua elaboração, harmonização e atualização de preferência antes da ocorrência do próximo surto (Roddy, 2014).

As principais orientações, em caso de suspeita ou confirmação de infeção por Filovírus, descrevem que estes indivíduos devem ser imediatamente colocados em quartos individuais com casa de banho privada, boa ventilação, janelas e a porta deste devem permanecer sempre fechadas e de acesso restrito (Meyers et al., 2015; World Health Organization, 2014a). Restringir todo o pessoal não essencial a estas áreas, e os que acedem a estes locais devem ter registo prévio (World Health Organization, 2014a). Deve-se assegurar que todos os visitantes incluindo os profissionais de saúde deverão com todo o cuidado evitar o contato direto com fluídos corporais, através do uso de luvas interiores e exteriores, um equipamento de proteção individual (EPI), com sapatos de plástico ou borracha e proteção ocular individual e fornecer instruções a todos os visitantes sobre como usar corretamente o EPI e sobre a prática correta da higiene das mãos (Meyers et al., 2015; World Health Organization, 2014a). A figura 8 demonstra todo o equipamento que deve ser usado. A colocação e remoção do EPI deve ser supervisionada por um indivíduo treinado e qualificado, a fim de verificar que não existe autocontaminação (Centers for Disease Control and Prevention, 2015b). A higiene das mãos deve ser realizada antes e após o contato com o paciente ou com qualquer superfície potencialmente contaminada, bem como, após a remoção do EPI, inclusivamente no momento imediato após a remoção das luvas, devendo ser feita com água corrente limpa e desinfetantes (World Health Organization, 2014a).

Deve usar-se uma bata impermeável descartável de plástico ou borracha que cubra toda a roupa e pele exposta. Usar proteção facial que evite respingos no nariz, boca e olhos, através de uma máscara médica com óculos ou viseira (World Health Organization, 2014a). Quando existam grandes quantidades de fluídos corporais, como por exemplo durante uma hemorragia nasal, tosse ou diarreia explosiva, recomenda-se o uso de uma máscara com viseira e de coberturas de pernas impermeáveis e resistentes a fluídos (Meyers et al., 2015).

Qualquer equipamento utilizado durante os procedimentos realizados ao doente deve ser descartado ou dedicado exclusivamente para esse doente, e estes procedimentos devem ser realizados com o maior cuidado para evitar qualquer contato com o equipamento potencialmente contaminado (Meyers et al., 2015; World Health Organization, 2014a).

Não só os profissionais de saúde que contactam diretamente com estes doentes, como também, todos os outros que contactam com os fluídos corporais ou com superfícies onde estes foram colocados, como o pessoal de limpeza e manutenção, e outros auxiliares incluindo os do laboratório devem também usar equipamento de proteção individual (Meyers et al., 2015).

Deve-se assegurar que o pessoal clínico e não clínico se dedique exclusivamente a estas áreas de isolamento e que não se mova livremente para outras áreas durante os surtos, bem como limitar o número de agulhas e outros objectos cortantes tanto quanto possível, e que estes sejam imediatamente descartados em contentores próprios imediatamente após o seu uso. Estes contentores são depois fechados e selados e enviados para inceneração (World Health Organization, 2014a).

Todo o material que possa ser reutilizado tais como, luvas, batas, botas e EPIs, requer limpeza física seguida de desinfeção através de pulverização com soluções de cloro, ou quando possível, ser descartado. Toda a remoção deste material deve ser feito em áreas designadas para tal (World Health Organization, 2014a).

Como referido anteriormente, a transmissão através de aerossóis não é conhecida, e portanto, o uso de máscaras com respirador, como as de filtro N95, ou a colocação do doente infetado em câmaras de isolamento com pressão negativa não é requerido. Contudo, estes procedimentos devem ser praticados em caso de intubação, extubação, broncoscopia, e ventilação não invasiva de pressão positiva, pois, durante a qual pode ocorrer formação de aerossóis de fluídos corporais (Meyers et al., 2015).

No entanto, ainda há algumas incertezas no que respeita aos modos de transmissão dos Filovírus, e alguns autores apoiam o uso de máscaras com respirador em todos os processos pois são fatores relevantes que podem ter impacto sobre o trabalho e segurança dos profissionais de saúde, e visto este tipo de infeções provocar taxas de letalidade extremamente elevadas deve ser, sem dúvida, considerado o uso destas máscaras (MacIntyre et al., 2014). É importante ressaltar que, onde existam incertezas, o princípio da precaução, isto é, a ação para reduzir os riscos não deve esperar certeza científica, para ser considerado (MacIntyre et al., 2014).

Se por um lado em laboratórios BSL-4 se adere ao mais alto nível de isolamento biológico na manipulação de vírus, tais como os Filovírus, e estes são expostos de forma altamente controlada, e em ambiente estéril no qual há menos risco de contaminação, usam máscaras com respirador, por outro lado num ambiente altamente instável, contaminado e clinicamente imprevisível não são obrigatórias máscaras com respirador, e a perceção destas desigualdades podem reduzir a disposição de profissionais de saúde para trabalharem durante um surto de Filovírus (MacIntyre et al., 2014).

Entre as organizações de saúde, apenas os MSF recomendam o uso de máscaras com respiradores num surto de Filovírus, bem como, em relação aos países, somente as diretrizes Britânicas e Sul-Africanas recomendam o uso deste tipo de máscaras em infeções de febre hemorrágicas (MacIntyre et al., 2014).

Atualmente, ainda não existem protocolos que indiquem a mais ou menos perigosidade dos aerossóis significativos que possam ocorrer em situações como epistaxe, ou vômito significativo, cabendo assim ao profissional de saúde o julgamento de requerer ou não os procedimentos anteriormente descritos (Meyers et al., 2015).

No último surto de EBOV, apesar dos cuidados inerentes, os profissionais de saúde devido ao clima tropical de humidade e calor intenso, mudavam de equipamento de proteção individual entre 1 a 3 horas, o que potenciou alguns descuidos (Bah et al., 2015).



Figura 8- Equipamento de Proteção Individual;
Esta imagem descreve todo o equipamento que deve ser usado em todas as pessoas que contactam com doentes, podendo observar-se o EPI, luvas de plástico resistentes, botas de borracha resistentes, e o respirador.
(Retirado de “Chemical Safety Specialists,” 2015)

Paralelamente aos cuidados de saúde inerentes nestas situações deve-se fornecer apoio psicológico aos doentes e às famílias para gerir a ansiedade e o medo. É importante explicar a necessidade de isolamento e o uso do equipamento de proteção individual (World Health Organization, 2014a).

É também oportuno convencer os líderes comunitários e as equipas de saúde a consciencializarem a comunidade para enterrarem os corpos muito rápido e com o menor contato possível com o cadáver (Joel G. Breman, M.D., D.T.P.H., and Karl M. Johnson, 2014).

É igualmente importante que os funcionários de saúde sejam treinados e qualificados, e que haja uma fiscalização nesse sentido, para que se faça um bom atendimento clínico e as medidas de controlo sejam fielmente seguidas dos protocolos (Joel G. Breman, M.D., D.T.P.H., and Karl M. Johnson, 2014).

De uma forma global, nenhum país está preparado para uma pandemia, nem se praticam medidas que evitem essas situações, este facto comprova-se, particularmente neste último surto, pois as pessoas não foram proibidas de viajar, e os que viajaram destes países afetados foram apenas rastreados nas partidas, se apresentavam sinais de febre, ou outros sintomas, e se fossem suspeitos de infeção pelo vírus ficavam 21 dias sujeitos a monitorização, todos os outros sem sinais nem sintomas podiam sair

livremente destes países, podendo o vírus estar em tempo de incubação. Isto é de tal forma alarmante que o vírus se espalhou facilmente para a Nigéria, EUA e Espanha através de viagens aéreas (Ross et al., 2014). Alguns países como Gabão, Senegal, Camarões, Costa do Marfim e África do Sul fecharam as fronteiras terrestres para evitar a propagação do vírus para os seus territórios, bem como, proibiram os voos provenientes da Serra Leoa, Guiné e Libéria de aterrarem nos seus territórios (Ross et al., 2014).

Num futuro surto, as nações internacionais deveriam considerar esta proibição, para impedirem a propagação e uma possível pandemia (Ross et al., 2014).

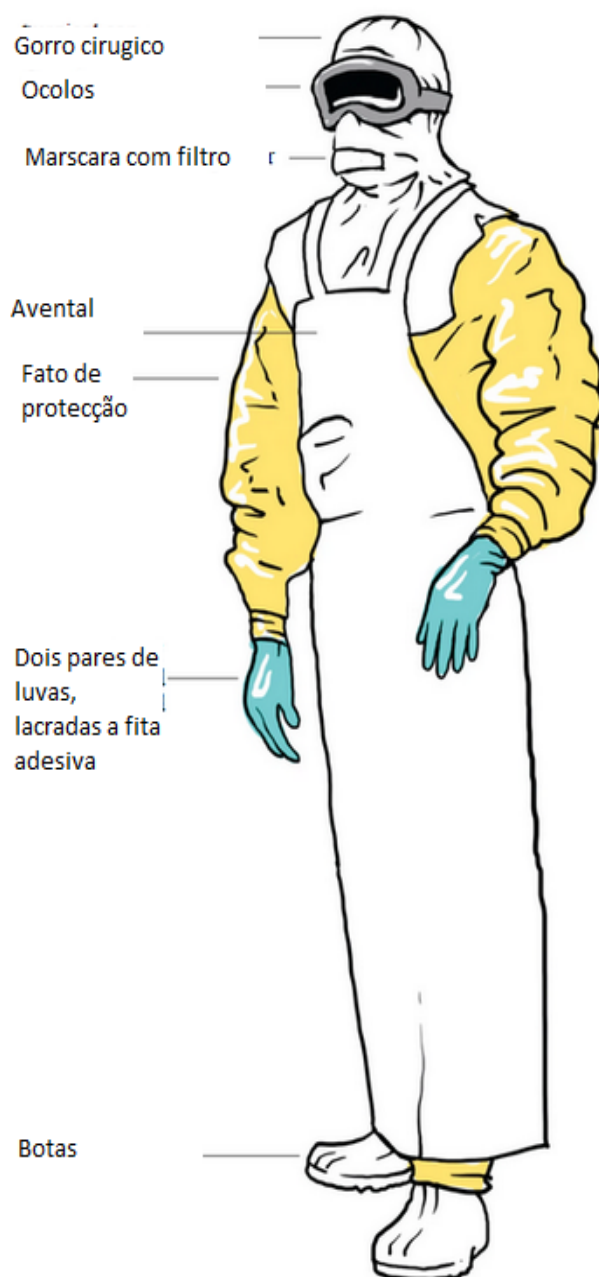
7.1. Colocação e remoção do EPI

A sequência das ações envolvidas em cada etapa de colocação e remoção do EPI são fundamentais para evitar a exposição e auto-contaminação dos profissionais de saúde.

- Cada profissional de saúde e todos os outros funcionários que entram em áreas de isolamento devem ser observados por um indivíduo qualificado e treinado, que lê em voz alta cada etapa do procedimento de colocação e remoção do EPI, bem como outros procedimentos no atendimento ao paciente, verificando e confirmando visualmente;
- Garantir que a zona de colocação do EPI é separada da área de isolamento e que haja um fluxo unidirecional da área de colocação para a área de isolamento onde o EPI é removido junto à porta de saída, separando assim o espaço em áreas limpas e áreas contaminadas;
- O EPI deve ser colocado corretamente, devagar e sem distrações, antes da entrada na área do isolamento;
- O EPI não deve ser ajustado durante o atendimento ao paciente;
- As mãos devem manter-se afastadas do rosto durante o atendimento ao paciente isolado e limitar o contato com o paciente e superfícies potencialmente contaminadas;
- As luvas exteriores podem ser descartadas no quarto de isolamento quando contaminadas;
- Desinfetar as mãos devidamente enluvadas, frequentemente usando álcool;

- Após o atendimento na área isolada, o EPI deve ser removido lenta e corretamente para reduzir a possibilidade de auto-contaminação;
- O uso de duplas luvas permite eliminar a contaminação visível usando as luvas internas depois de descartadas as luvas externas;
- O observador não deve em momento algum prestar auxílio físico durante a remoção do EPI;
- Na área de remoção do EPI devem ser fornecidas soluções desinfetantes para realizar a higiene do espaço e das mãos (Centers for Disease Control and Prevention, 2015b).

A figura 9 ilustra o EPI bem como, todo o equipamento a ser utilizado e descreve de forma sucinta o descrito anteriormente.



. Cada trabalhador é inspecionado por um colega, para detectar pele exposta ou aberturas no equipamento.

. Antes de entrar no centro de tratamento os trabalhadores são borrifados com uma solução aquosa a 5% de cloro

1. Uma vez no centro de tratamento, os funcionários não podem levar as mãos à cara, e devem limitar o contacto com as superfícies, são obrigados a lavar as luvas com regularidade.

1. As luvas devem ser descartadas com regularidade, se possível, deve ser utilizado um par de luvas no atendimento a cada paciente.

. Antes de sair do centro, os funcionários são novamente desinfectados com o spray de solução de cloro a 5% e passam por uma bacia de cloro.

1. Na area de contenção, os trabalhadores descartão as luvas exteriores para um recipiente de biopulentes.

1. Entre cada remoção dos elementos do vestuario, os trabalhadores lavam as mão numa solução de cloro.

. Antes de abandonar a area de contenção, os trabalhadores desinfectam os pés com a solução de cloro.

O fato de protecção, os oculos e o avental podem ser reutilizados pós desinfectação. O gorro e a mascara com filtro são incinerados

Figura 9- Equipamento de Protecção Individual;
Esta imagem descreve todo o procedimento de colocação e remoção do equipamento de protecção individual
(Adaptado de “Chemical Safety Specialists,” 2015)

7.2. Desafios

As populações destas regiões estão dispersas e os sistemas de saúde são antiquados e encontram-se sobretudo nas grandes cidades. Para além de tudo isto não existem mecanismos de fiscalização, nem recursos humanos capacitados, nem métodos de diagnóstico eficazes e tudo isto contribui para a escassez de funcionamento dos sistemas de vigilância dos Filovírus.

Nestes países propensos a surtos, existe na prática, uma enorme carência praticamente a todos os níveis, como falta de profissionais de saúde capacitados, mau acesso a luvas e outros equipamentos de proteção individual, fazendo com que os profissionais sejam muitas vezes tentados pelas difíceis circunstâncias a reutilizarem agulhas e seringas contaminadas. Carência a nível de infraestruturas, as quais não têm electricidade estável, frigoríficos e congeladores funcionais e água corrente (Bausch, Sprecher, Jeffs, & Boumandouki, 2008; Ross et al., 2014).

Para a gestão e implementação de uma resposta eficaz, as equipas têm que repor continuamente os seus números de recursos humanos multidisciplinares e multisetoriais, que rotineiramente operam em locais remotos. Estes esforços tornam-se ainda mais complicados quando há resistência a nível da comunidade para as intervenções, devido ao medo da doença e equívocos relativamente aos objetivos da resposta do surto, como aconteceu no Gabão e na RDC em 2002, em Angola em 2005 e recentemente na África Ocidental em 2014 (Roddy, 2014).

Outro dos desafios refere-se às semanas ou meses de transmissão contínua que ocorre numa comunidade antes do reconhecimento e declaração oficial do surto, que contribuem para os números elevados de pessoas infetadas, bem como, para uma ampla dispersão geográfica (Roddy, 2014). Estando muitas vezes associado a crenças tradicionais comuns em África de que a doença resulta de feitiçaria ou envenenamento em vez de um vírus (Bausch et al., 2008).

As alas de isolamento são normalmente consideradas pela comunidade como um lugar à espera da morte, com os profissionais de saúde a usarem luvas e o equipamento de proteção individual, sendo o contato com os membros da família extremamente limitado, torna este ambiente ameaçador, bem como, a possibilidade de morrer e ter de ser enterrado em locais desconhecidos sem os tradicionais rituais tão importantes nestas culturas africanas e por isso os doentes ficam relutantes e até mesmo violentos recusando a entrada nos locais de isolamento (Bausch et al., 2008).

A figura 10 demonstra claramente as infraestruturas bastante precárias nestes países.



Figura 10- Centro de tratamento de vírus Ébola; e área de isolamento;
Nesta imagem podemos observar os centros precários dos surtos de EBOV, nomeadamente as suas infraestruturas e a ala de isolamento.
Imagens superiores: exterior e interior da ala de isolamento (República Democrática do Congo, 2007)
imagens inferiores: na esquerda, observam-se os trabalhadores a remover o corpo de uma vítima da ala de isolamento; e na direita observa-se o interior da enfermaria (enfermaria de isolamento, Hospital Regional de Gulu, Uganda, 2000).
(Retirado de Bausch et al., 2008)

8. TRATAMENTO

Apesar, dos avanços a nível das terapêuticas, como, os anticorpos monoclonais, proteínas recombinantes, combinações de interferão-anticorpo, e pequenos RNA interferentes, terem já demonstrado sucessos em modelos de primatas não humanos infectados por Filovírus, nenhum está atualmente aprovado para ser utilizado em seres humanos (Meyers et al., 2015).

Uma vez que estes vírus têm de ser manipulados em laboratórios BSL-4 limita e restringe o desenvolvimento de medicamentos antivirais (Li et al., 2015).

No entanto, em alguns casos, usa-se o vírus da estomatite vesicular que mimetiza o EBOV nas suas características gerais, e estes ensaios podem ser realizados em laboratórios BSL-2 (Goeijenbier et al., 2014; Li et al., 2015).

Os tratamentos candidatos são testados em primatas não humanos, nomeadamente macacos cinomolgos ou os macacos rhesus, sendo chamados NHPs, são considerados o modelo animal padrão disponível para prever a eficácia em humanos (Wong, Qiu, Olinger, & Kobinger, 2014).

8.1. Tratamento Atual

O tratamento de qualquer infeção que provoque febre hemorrágica viral, obedece à conformidade com protocolos provisórios estabelecidos pelos médicos sem fronteiras e a OMS sendo posteriormente aprovado pelo Ministério da Saúde do/s país/es afetado/s para a atuação urgente (Bah et al., 2015).

A base do tratamento para um paciente com suspeita de infeção por Filovírus faz-se através de cuidados de suporte. Este suporte intervém a nível hemodinâmico e respiratório, bem como na correção significativa de coagulopatias, e neste sentido, considera-se o uso concentrado do complexo de protrombina, plasma e crioprecipitado, também atuam no controlo da febre, e pressão sanguínea e na rehidratação constante (De Clercq, 2014; Meyers et al., 2015). Adicionalmente intervenções mais simples e prontamente disponíveis como a ingestão de bananas ou tisanas, poderão ser benéficas por neutralizar ou compensar a perda de fluídos e de potássio (Shah et al., 2015).

Normalmente, são também fornecidos antibióticos de largo espectro, antipiréticos e analgésicos. Já em fases mais avançadas da doença, quando o paciente já

está com falência de órgãos deve ser abordada a diálise para a insuficiência renal, e a oxigenação para a insuficiência pulmonar (Feldman & Geisbert, 2012).

Foi aprovado, pela OMS a utilização de soro de pessoas que recuperaram da infecção (Martines et al., 2015). Esta abordagem já foi usada anteriormente, em 1977, num pequeno número de doentes infetados pelo EBOV (Meyers et al., 2015). De facto, não há evidência se os anticorpos do plasma proveniente de sobreviventes ao EBOV são suficientes para tratar ou prevenir a doença pois os resultados de estudos anteriores foram difíceis de interpretar (World Health Organization, 2014b). No entanto, para este método ser minimamente seguro o plasma tem que ser fornecido por bancos de sangue com recursos e práticas de boa qualidade, tendo sempre riscos inerentes tais como a transmissão de agentes infecciosos (World Health Organization, 2014b).

E mais recente, foi aprovado, um tratamento experimental, o ZMAPP que será abordado mais à frente no presente trabalho (Pancer, 2015).

Outros medicamentos como a amiodarona, atorvastatina + irbesartan e o clomifeno foram usados em ambiente clínico sem avaliação prévia da OMS (World Health Organization, 2015a).

8.2. Moduladores da transcrição viral – Pequenas moléculas interferentes com a síntese de RNA

Estes tratamentos são projetados para serem homólogos a alvos virais específicos, podendo ser direcionados para a proteína VP24, proteína VP35 e para a RNA polimerase, a fim de evitar a desregulação de interferão tipo I gerada pelos Filovírus e reprimir assim a sua replicação (Wong et al., 2014).

8.2.1. TKM-EBOLA

O TKM-EBOLA foi formado a partir de siRNA que reconheceu as sequências específicas de RNA do gene VP24 e VP35. Foram envolvidos em partículas lipídicas para a sua administração *in vivo* e realizou-se o teste em animais infetados tendo todos sobrevivido (Li et al., 2015).

Este fármaco foi aprovado para ensaios clínicos de fase I pela FDA (Ansari, 2014).

Um dos ensaios clínicos teve início em março de 2015, na Serra Leoa, e foi liderado pela Universidade de Oxford. Este ensaio foi interrompido a 19 de Junho por não demonstrar benefício terapêutico global e por ter desenvolvido efeitos adversos, tais como: dores de cabeça, tonturas, sensação de aperto no peito, e aumento da frequência cardíaca (World Health Organization, 2014b, 2015a).

8.2.2. AVI- 6002 – Oligomeros de Fosforodiamidato morfolino

O Avi-6002 é uma mistura de PMOs e estes são oligomeros de DNA que reconhecem uma cadeia simples de RNA ou de DNA específico do vírus, para formar complexos estáveis, a fim de bloquear a replicação viral (Li et al., 2015).

Este composto é constituído por AVI-7537 e AVI-7539, particularmente o AVI-7537 tem como alvo principal o gene VP24 do EBOV (De Clercq, 2014). Este fármaco específico contra o EBOV, possui PMOs carregados positivamente de sequências alvo de RNAm, VP24 e VP35 (Wong et al., 2014)

O AVI-6002 protegeu 3 de 5 macacos infetados, demonstrando assim uma proteção de 60% (Wong et al., 2014).

8.2.3. AVI-6003

Esta molécula é em tudo igual à anterior, apenas o seu alvo difere, sendo esta direcionada para o MARV (Wong et al., 2014)

Este composto é constituído por AVI-7287 e AVI-7288, nomeadamente este último tem como alvo o gene NP do MARV (De Clercq, 2014)

Foram projetadas PMOs para a VP24, VP35 e a RNA polimerase do MARV, na qual resultou 100% de sobrevivência dos macacos infetados (Wong et al., 2014)

Ambas, as moléculas AVI concluíram a fase I de ensaios clínicos em 2011 (Wong et al., 2014).

Têm existido alguns contratempos no que diz respeito a estes três últimos fármacos, como o facto de nos vírus de RNA, a taxa de mutação ao nível do ácido nucleico ser normalmente mais elevada do que a taxa de variação antigénica ao nível da proteína, tendo portanto, mais dificuldades a enfrentar problemas na variação genética do vírus, bem como, ambos os fármacos devem chegar ao citoplasma de forma mais

eficiente para se conseguirem reduzir as dosagens e as frequências das doses (Li et al., 2015).

8.2.4. Favipiravir

O favipiravir, derivado de t-pirazinacarboxamida T-705, já foi demonstrado que inibe seletivamente a replicação do vírus da gripe, por presumivelmente atuar como nucleótido análogo da pirazina, que inibe seletivamente a RNA polimerase dependente de RNA através de um metabolito ativo ou induz uma elevada taxa de mutação letal mediante incorporação no RNA do vírus (Oestereich et al., 2014; Picazo & Giordanetto, 2014).

Este encontra-se em fase III de ensaios clínicos para o tratamento da gripe (Oestereich et al., 2014; Picazo & Giordanetto, 2014; Smither et al., 2014).

Além do vírus influenzae, o favipiravir, já mostrou ter uma potente atividade antiviral contra vírus RNA de cadeia negativa, e contra vírus RNA de cadeia positiva (Li et al., 2015; Oestereich et al., 2014). Como tal, esta mesma molécula, já demonstrou, em testes *in vitro*, ser eficaz na inibição da replicação de Filovírus, nomeadamente o EBOV, sem toxicidade observada nas condições experimentais usadas (Oestereich et al., 2014).

Após 6 a 13 dias, de ratinhos terem sido infetados por EBOV, o favipiravir foi administrado 2 vezes por dia, sendo capaz de prevenir a mortalidade em 100% dos animais infetados, do qual resultou uma produção significativa de anticorpos anti-EBOV, indicando assim a ocorrência de uma resposta imune adaptativa específica contra o vírus Ébola (Li et al., 2015; Oestereich et al., 2014; Picazo & Giordanetto, 2014).

Desta forma, especula-se que a supressão da replicação viral pelo favipiravir *in vivo*, permite o desenvolvimento da resposta adaptativa do sistema imunitário do hospedeiro para combater eficazmente a infeção viral e contribuir assim para o efeito terapêutico do favipiravir (Oestereich et al., 2014).

Para além da vantagem de não ter apresentado toxicidade, este pode ser administrado por via oral, contrapondo assim os potenciais riscos durante uma injeção (Li et al., 2015).

Os ensaios clínicos deste fármaco começaram em Dezembro de 2014. Este fármaco foi administrado a 200 doentes, da Guiné Conakry, que receberam 9 dias de

tratamento oral, não existindo nenhum grupo controle. Este ensaio foi financiado pela Comissão Europeia. Os resultados mostram que o favipiravir obteve uma taxa de sobrevivência de 85% em adultos e adolescentes com carga viral baixa a moderada e com o início do tratamento cedo (World Health Organization, 2015a).

Recentemente, este fármaco foi usado para tratar uma enfermeira dos Médicos sem Fronteiras que terá sido infetada (Li et al., 2015).

Uma desvantagem que este fármaco apresenta tem que ver com a potencial toxicidade congénita e por isso não deve ser usado na gravidez (World Health Organization, 2014b).

8.2.5. BCX4430

O BCX4430 é um análogo da adenosina, que atua como finalizador da incorporação da cadeia de RNA viral, mas não no DNA ou RNA humano, interferindo deste modo, com a RNA polimerase viral (Li et al., 2015; Picazo & Giordanetto, 2014).

Já demonstrou ser ativo *in vitro* contra o EBOV e outros vírus de RNA de polaridade negativa, sem produzir mutagenicidade significativa, sendo importante testar a eficácia do BCX4430 na infeção de outras espécies de Filovírus, a fim de confirmar o largo espectro de atividade deste composto *in vivo* (Picazo & Giordanetto, 2014; Wong et al., 2014).

Foi também demonstrado, em ratinhos infetados pelo EBOV, que a administração oral ou intramuscular de BCX4430 duas vezes por dia, 6 a 4 horas antes da infeção teve resultados de 100% a 90% de sobrevivência, respetivamente (Picazo & Giordanetto, 2014).

Quando administrado por via intramuscular a macacos cinomolgos, demonstrou proteger 100% e 83% após 1 hora e 24h a 48h, respetivamente, após a infeção de EBOV (Wong et al., 2014). Também demonstrou 100% de proteção em macacos cinomolgos infetados com o MARV, sendo o BCX4430 administrado 48 horas após o início da infeção (Falzarano & Feldmann, 2014). Nos animais tratados foram observados níveis baixos de viremia, tempos de coagulação reduzidos, e baixos níveis de enzimas hepáticas (Falzarano & Feldmann, 2014).

Uma desvantagem desta molécula é que são necessárias doses elevadas para se conseguir proteção, aumentando assim, os possíveis problemas de toxicidade que possam estar relacionados com o fármaco (Wong et al., 2014).

Estão em andamento ensaios de segurança de fase I (World Health Organization, 2015a).

8.2.6. CMX001

O CMX001 ou brincidofovir é um pró-fármaco do cidofovir, que mostrou ter atividade contra vários vírus de DNA, nomeadamente contra o citomegalovírus e o adenovírus, o qual se encontra em fase III de testes clínicos. Este fármaco inibe a replicação viral através da inibição da DNA-polimerase viral, deste modo também poderá interferir na RNA polimerase dos Filovírus. Como esta atividade contra os Filovírus ainda não está clara, surgiu uma fase II de ensaios clínicos para testar a sua segurança e potencial atividade antiviral em doentes infetados com EBOV (Li et al., 2015).

8.2.7. NP-718m-LNP

Este fármaco está a ser desenvolvido para ser direcionado à estirpe Angola do vírus Marburg. Emily P. Thi,^{1*} Chad E. Mire,^{2,3*} Raul Ursic-Bedoya et al, demonstraram que este fármaco protegeu completamente macacos rhesus contra a letalidade desta estirpe do vírus, sendo este administrado 3 dias após o início da infeção. Foram usados macacos rhesus pois são os primatas não humanos que sucumbem mais rápido à infeção por MARV, aumentando desta forma o desafio. Apesar deste fármaco ter sido direcionado para esta estirpe consegue abranger todas as estirpes da espécie *Marburg marburgvirus*, incluindo do vírus Ravn (Thi et al., 2014).

8.2.8. Inibidores de Hidrolase s-adenosil (HAS)

Foi relatada a capacidade do 3-deazaadenosina carbocíclico (C-c3Ado) e o 3-deazaneplanocina A (c3Nep) inibir a replicação do EBOV *in vitro*, nomeadamente através da inibição da hidrolase (De Clercq, 2014; Picazo & Giordanetto, 2014). Tendo sido já testado e demonstrado em estudos realizados em murganhos e em ratinhos infetados, que a sobrevivência contra o vírus diminui com o aumento do tempo entre a infeção e o início do tratamento. Deteriorização semelhante de eficácia foi demonstrado com dois enantiómeros de C-10 e C-60 de isoneplacina, devido ao atraso do início do tratamento, mas inibem efetivamente a replicação do EBOV *in vitro*.

Todos estes fármacos vão aumentar a produção dos níveis de δ -interferão através do bloqueio da metilação do RNAm, a partir das células não infetadas (De Clercq, 2014; Picazo & Giordanetto, 2014).

8.3. Moduladores Seletivos dos Recetores de Estrogénio (SERMS)

O clomifeno e toremifeno apresentam uma potente inibição do EBOV, interferem com o passo final da entrada do vírus na célula, afetando desta forma, o desencadeamento da fusão (De Clercq, 2014).

Os ensaios em ratinho infetados produziram taxas de sobrevivência de 90% (De Clercq, 2014).

Estes fármacos já foram previamente aprovados pela FDA para serem usados no tratamento de infeções por Filovírus (De Clercq, 2014; Picazo & Giordanetto, 2014).

8.4. Fármacos que modulam os sintomas sem visar diretamente o vírus

8.4.1. Interferão

O interferão foi descoberto em 1950, no entanto a sua utilização para fins médicos tem sido limitada, foi aprovada apenas para o tratamento da Hepatite B e C, juntamente com a ribavirina; e esclerose múltipla, devido aos efeitos secundários graves que este origina (De Clercq, 2014; World Health Organization, 2015a).

O interferão tipo I, nomeadamente o δ -interferão ou β -interferão poderiam atrasar o aparecimento dos sintomas e a ocorrência de viremia, prolongando assim o tempo de sobrevivência, no entanto, não impedem a letalidade característica dos Filovírus (De Clercq, 2014).

Uma das vantagens deste fármaco prende-se com a facilidade da sua disponibilização estar aumentada, visto que a sua utilidade no tratamento da Hepatite está a ser ultrapassada pela ação direta de antivirais (De Clercq, 2014).

As autoridades guineenses em colaboração com cientistas canadenses lançaram um estudo clínico mas a inscrição foi limitada a doentes com início recente dos sintomas, até à data estão incluídos 9 (World Health Organization, 2015a).

8.4.2. Proteína anticoagulante C2 nematoide recombinante e a Proteína C humana ativada recombinante

Estes compostos são anticoagulantes e são destinados ao tratamento dos sintomas clínicos observados em doentes infetados por Filovírus bem como outras doenças (Wong et al., 2014).

A Proteína anticoagulante C2 nematoide recombinante está destinada ao tratamento de coagulopatias e a Proteína C humana ativada recombinante para sepsis, mas não são específicos para a doença causada por Filovírus (Wong et al., 2014).

A anticoagulante C2 nematoide recombinante inibe o factor tecidual VIIa – mediador da coagulação, por prevenir a formação de trombina, e a Proteína C humana ativada recombinante está clinicamente aprovada para ser utilizada no tratamento da sepsis severa em seres humanos (Wong et al., 2014).

A proteína C e a proteína C2 demonstraram proteger parcialmente os animais infetados com EBOV, pois aumentaram as taxas de sobrevivência para 17% e 33%, respetivamente, sendo precisas nove a quinze doses de tratamento, revelando assim não ser viável usá-lo sozinho (Falzarano & Feldmann, 2014; Wong et al., 2014).

Uma das desvantagens é que continua a ser necessária administração intravenosa, porém, em contrapartida são moléculas bastante seguras (Falzarano & Feldmann, 2014; Li et al., 2015; Wong et al., 2014).

Embora estas abordagens sejam insuficientes quando usadas sozinhas, uma vez que a sua eficácia é relativamente baixa, podem ser usadas concomitantemente com outros fármacos antivirais recentemente descobertos (Li et al., 2015).

8.5. Inibidor da entrada viral com base em péptidos

Em 1992 foi descoberto o primeiro péptido inibidor da entrada do vírus HIV, o péptido CHR sendo esta estratégia um potencial tratamento para Filovírus (Li et al., 2015).

O fundamento deste processo baseia-se na adição de um CHR na sequência de um péptido C, resultando a inibição da fusão entre a membrana viral com a membrana da célula hospedeira (Li et al., 2015).

Foi assim sintetizado o Tat-Ebo, que demonstrou em culturas de células, proteger 90% das células contra a infeção. Adicionalmente, o Tat-Ebo também demonstrou ter atividade de inibição contra 3 espécies de *Ebolavirus*, o *Zaire*

ebolavirus, *Sudão ebolavirus*, *Reston ebolavirus* e até mesmo do *Marburgvirus* (Li et al., 2015).

Num outro estudo, foi conjugado o CHR com colesterol e um análogo de Tat originando uma conformação em hélice, demonstrando também redução da infecção. No entanto, este péptido também inibe a entrada de outros vírus como o vírus da estomatite vesicular o que sugere falta de especificidade. O que por um lado o Tat-Ebo tem de especificidade, este último tem de potência. Nenhum destes fármacos foi ainda testado em modelos animais, muito devido ao facto de se ter que maximizar a janela terapêutica e minimizar as doses (Li et al., 2015).

8.6. Benzodiazepina

Um derivado da benzodiazepina, denominado composto 7, bloqueia a entrada de EBOV e MARV, através do bloqueio do colesterol transportador de Niemann-Pick, necessário para a entrada do vírus na célula hospedeira (De Clercq, 2014; Li et al., 2015). No entanto, serão precisos mais estudos para determinar de que forma é que este bloqueio acontece (Li et al., 2015).

8.7. Fármacos usados no tratamento cardiovascular

As infeções tais como infeções virais podem afetar o sistema cardiovascular (Patanè, 2014).

Foram aprovados clinicamente três inibidores do canal iónico, amiodarona, dronedarona e o verapamilo, os quais demonstraram inibir a entrada de EBOV com base nos resultados dos ensaios com vírus similares ao EBOV (De Clercq, 2014; Li et al., 2015; Picazo & Giordanetto, 2014).

Particularmente a amiodarona foi usada compassivamente em 80 doentes na Serra Leoa e reduziu a mortalidade destes quando comparado com padrões históricos locais (World Health Organization, 2015a). É importante relatar, que a concentração de amiodarona para bloquear a entrada do vírus foi igual à concentração sérica utilizada em terapia anti-arritmica em seres humanos (Li et al., 2015).

Atualmente, este tratamento já não está a ser usado (World Health Organization, 2015a).

Foi igualmente aprovado o irbesartan com atorvastatina e clomifeno, usado para tratar alguns doentes na Serra Leoa, no entanto, não existem dados clínicos que comprovem a eficácia e segurança deste tratamento (World Health Organization, 2015a).

8.8. Tratamentos Anti-maláricos

Durante este último surto, foram concedidos fármacos anti-maláricos a todos os doentes que entraram nos centros de tratamento do EBOV. Os MSF passaram a dar anti-maláricos contendo amodiaquina em vez de lemfantrina, e as taxas de mortalidade caíram, não se sabe se isto se deveu à eficácia da amodiaquina contra o EBOV ou se a elevada mortalidade se devia à toxicidade provocada pela lemfantrina em doentes com EBOV (World Health Organization, 2015a).

Estas intervenções podem estar disponíveis em quantidades maiores do que os fármacos experimentais que ainda se encontram em desenvolvimento. No entanto, demonstram menos benefícios do que os esperados e efeitos adversos significativos ou um potencial de causar dano sendo por isso desaconselhada a sua utilização (Shah et al., 2015).

Devido a estas evidências a OMS iniciou testes em primatas não humanos infetados, tratados com amodiaquina e observou-se diminuição da mortalidade nestas populações. Estão também agora a ser iniciados estudos não apenas usando o perfil terapêutico da amodiaquina mas o seu potencial profilático (World Health Organization, 2015a).

8.9. Vacinas Terapêuticas

O termo vacina no seu sentido lato é ser preventiva, e é administrada a indivíduos saudáveis para induzir imunidade protetora contra o alvo da vacina. No entanto há casos, em que indivíduos previamente expostos a determinados patógenos, não só sobreviveram à infeção como adquiriram imunidade, sendo esta denominada, imunidade passiva (Ansari, 2014). Os anticorpos monoclonais que têm como principal acção neutralizar o patógeno são um bom exemplo da justificação do termo vacinas terapêuticas, pois têm eficácia quando são administradas após a infeção (Ansari, 2014).

8.9.1. Anticorpos Monoclonais

Este tipo de terapias neutralizantes é utilizado para tratar a infecção após exposição inibindo a replicação do vírus numa fase inicial da infecção (Li et al., 2015).

Como anteriormente descrito, já em 1995, durante um surto de EBOV na RDC se teria tentado uma abordagem semelhante, através da administração de soro de doentes recuperados da infecção em doentes infetados, no entanto a amostra não terá sido suficiente para demonstrar de facto resultados (Li et al., 2015).

Mais tarde, foi obtida, a partir do soro de cavalos imunizados, IgG policlonal anti-EBOV que foi de seguida administrada em macacos infetados, demonstrou alguns resultados no que toca ao atraso do desenvolvimento da doença, no entanto, a taxa de sobrevivencia não foi a esperada (Li et al., 2015).

Seguidamente, foi usada IgG homogénea policlonal purificada em animais infetados, na qual todos os animais do grupo de tratamento sobreviveram, enquanto, que os animais do grupo de controlo morreram. Embora esta terapêutica pudesse ser promissora, foram relatados problemas a nível de toxicidade, tais como, transmissão de outros patógenos em transfusões contaminadas (Li et al., 2015).

Para resolver estas questões, os investigadores, obtiveram anticorpos monoclonais tendo alvos específicos, como as glicoproteínas dos Filovírus para uso clínico (Li et al., 2015).

A combinação de anticorpos monoclonais com o vetor de adenovírus e β -interferão alargou a janela terapêutica até 3 dias após a exposição quando a viremia e os sintomas precoces já eram detetáveis (Oestereich et al., 2014).

E após várias tentativas de desenvolvimento neste sentido, chegou-se ao ZMAPP que foi produzido em grandes quantidades de tabaco, *Nicotiana benthamiana*, e depois transformado em cocktail sendo este composto por, uma combinação de três anticorpos monoclonais, sendo eles de MB-003 e ZMAB dirigidos à glicoproteína GP do EBOV (Ansari, 2014; Li et al., 2015; Meyers et al., 2015; Pancer, 2015).

Três doses de ZMAPP foram administradas após 5, 8 e 11 dias a macacos rhesus que já apresentavam viremia e sintomas característicos de infecção e todos sobreviveram, sendo que, após 21 dias não foi detetada carga viral, nem efeitos adversos (Li et al., 2015; Wong et al., 2014). Este cenário experimental é significativo uma vez que, as pessoas só recebem o diagnóstico de infecção após o aparecimento de sintomas podendo haver esperança mesmo depois do aparecimento dos mesmos (Li et al., 2015).

O ZMAPP já mostrou atividade inibitória de EBOV em humanos, uma vez que, foi administrado em doentes no surto recente e estes recuperaram (Li et al., 2015; Martines et al., 2015; Meyers et al., 2015). Devido aos atrasos no início dos ensaios clínicos, o ZMAPP, chegou a poucos casos. Muito embora, não seria possível inscrever as 30.000 pessoas infetadas resultantes deste surto nos ensaios clínicos. Sobretudo porque estes ensaios clínicos têm de ser realizados em locais com infraestruturas de cuidados de saúde razoáveis e também devido ao facto de que durante estas intervenções experimentais geralmente não estão disponíveis grandes quantidades de fármaco, até demonstrar de facto eficácia (Goeijenbier et al., 2014; Shah et al., 2015).

A vantagem deste tipo de abordagem diz respeito aos baixos índices de reacções adversas, bem como a capacidade de conferir imunidade rápida e específica em todas as faixas etárias, incluindo, os jovens, os idosos, e até os imunocomprometidos (Wong et al., 2014).

As desvantagens surgem por um lado ao nível das mutações que possam existir nos epítomos do alvo viral podendo reduzir ou mesmo suprimir a eficácia do tratamento (Wong et al., 2014).

Não obstante a velocidade lenta e os elevados custos associados ao desenvolvimento e produção de anticorpos monoclonais tornam-os mais restritivos. No entanto, os avanços na tecnologia, promovem a geração rápida de anticorpos monoclonais, melhorando assim os rendimentos na produção tendo ajudado a aliviar as preocupações associadas a despesas e tempo de resposta (Wong et al., 2014).

Pela primeira vez, foi identificada uma formulação de vacina terapêutica altamente eficaz, e esta, estará brevemente disponível depois dos ensaios clínicos terem terminado. Por ser um medicamento experimental, não existem dados disponíveis sobre os efeitos adversos que possam surgir (Ansari, 2014; Meyers et al., 2015).

Estão já em andamento ensaios na Libéria e nos EUA que começaram em fevereiro de 2015, e na Serra Leoa que começaram em março de 2015, tendo já mais de 35 doentes matriculados (World Health Organization, 2015a).

Outra prioridade é desenvolver anticorpos monoclonais contra outros Filovírus para além do EBOV, particularmente contra o MARV, SUDV e BDBV (Wong et al., 2014).

8.9.2. Vacina VSV-Filovírus GP

Outra abordagem de uma vacina terapêutica anti EBOV contém, vírus da estomatite vesicular recombinante atenuado e a proteína GP do EBOV (VSV-EBOV GP), tem sido estudada no âmbito de uma vacina terapêutica para o EBOV (Ye & Yang, 2014). Esta vacina expressa a glicoproteína da superfície viral GP que possui potencial imunogênico após uma dose única em doentes infetados com o EBOV (Agnandji et al., 2015).

Esta estratégia tem em vista, induzir potentes respostas imunitárias e inatas do hospedeiro, devido ao aumento da secreção por parte das células dendríticas de interferão tipo I, bem como as respostas imunes específicas das células B e T (Wong et al., 2014).

Quando administrada 20 a 30 minutos após a infeção ter começado, a vacina VSV-EBOV GP protegeu 50% dos animais infetados à priori, da letalidade (Ye & Yang, 2014).

Atualmente encontra-se em fase II e fase III de ensaios clínicos em curso na Guiné e Serra Leoa (World Health Organization, 2015a). Está a ser ensaiada num total de 158 participantes (Agnandji et al., 2015). Após a imunização com esta vacina os participantes sentiram sintomas inflamatórios agudos que já eram esperados, e alguns sentiram febre sendo estes os participantes infetados pelo EBOV. Um número mais baixo de participantes desenvolveu artrite, sendo provável ser um mecanismo de auto-imunidade. No entanto, esta vacina gerou anticorpos em todos os participantes, mostrando a sua imunogenicidade nos seres humanos (Agnandji et al., 2015).

Apesar desta vacina não ter sido aprovada para testes clínicos, em 2009 foi aplicada num investigador contaminado a partir de uma seringa contendo EBOV durante uma experiência com um animal. O investigador sobreviveu sem sintomas detetáveis de EBOV. Neste âmbito, a utilização da vacina terapêutica é um potencial tratamento pós-exposição à infeção (Li et al., 2015).

Esta vacina também pode abranger o género *Marburgvirus*.

A vacina terapêutica anti MARV contém o mesmo que a anterior com a excepção da glicoproteína G do vírus da VSV, que foi substituída, não pela GP do EBOV mas pela GP do MARV, originando assim a vacina VSV-MARV-GP (Mire et al., 2014). Os estudos iniciais desta vacina mostraram que uma única dose intramuscular a macacos rhesus 24h e 48h após a infeção por MARV, conferiu proteção parcial com taxas de sobrevivência de 83% e 33%, respetivamente (Wong et al., 2014).

Esta vacina induz uma forte resposta imune humoral, conferindo proteção completa após 28 dias a macacos cinomolgos, bem como, também demonstrou ser eficaz quando administrada em aerossóis conferindo proteção completa após 28 dias em primatas não humanos (Mire et al., 2014).

Uma outra estratégia contendo o vírus VSV recombinante atenuado mas expressando a proteína GP do SUDV (VSV-SUDV-GP) foi administrada por via intramuscular, a macacos rhesus, 20 a 30 minutos após a exposição, demonstrando proteger 100% dos macacos, sendo atualmente o único candidato confirmado para ser eficaz após exposição ao SUDV (Wong et al., 2014).

Foi também revelado que uma única injeção de uma vacina combinada com partes iguais de VSV-EBOV-GP, VSV-SUDV-GP e VSV-MARV-GP conferia proteção completa a primatas não humanos contra 3 espécies diferentes, sem sinais de toxicidade (Mire et al., 2014).

Esta vacina tem interesse significativo uma vez que, mostrou eficácia como vacina preventiva e como tratamento pós-exposição de EBOV e MARV, bem como, introduz um novo vírus para a população humana, abrangendo assim uma nova estratégia, no entanto, têm de ser realizados estudos de detalhe a nível de segurança humana (Mire et al., 2014; Ye & Yang, 2014).

As vantagens desta abordagem é que o VSV cresce facilmente e obtêm-se títulos elevados em culturas de células, e é eficaz mesmo em animais infetados imunocomprometidos (Wong et al., 2014).

Este tipo de vacinas tem preocupações a nível de estabilidade e questões de viabilidade para poderem ser armazenadas a longo prazo (Wong et al., 2014).

Ainda há arestas por limar, nomeadamente, a duração da imunidade, a largura de proteção cruzada contra as várias espécies de *Ebolavirus* e *Marburgvirus* e possíveis efeitos adversos (Ansari, 2014).

8.10. Vacinas Preventivas

Já existem algumas vacinas candidatas, nomeadamente uma desenvolvida no Instituto Nacional de Saúde dos EUA, que entrou em ensaio clínico de fase I, em Outono de 2014, existindo ainda outras duas em desenvolvimento, uma das quais esta prevista começar os testes em humanos em 2015 (Meyers et al., 2015).

Das vacinas candidatas existem as vacinas de DNA, vacinas vetoriais, e vacinas com partículas semelhantes ao vírus (VLPs), todas estas têm demonstrado eficácia contra febres hemorrágicas em modelos animais pequenos, tais como ratos e cobais, bem como em primatas não humanos (Oestereich et al., 2014; Ye & Yang, 2014).

8.10.1. Vacinas Vetoriais

A utilização das vacinas recombinantes tem tido maiores taxas de sucesso, especialmente uma vacina contendo adenovírus recombinante com gene de EBOV, já demonstrou proteção contra o *Ebolavirus* com apenas uma única vacinação (Ye & Yang, 2014).

Também foi desenvolvida uma vacina com adenovírus recombinante complexo, cuja proteção abrange não só o EBOV como também o MARV, tendo já demonstrado proteger diferentes espécies do desafio letal destes vírus, verificando-se assim imunização (Ye & Yang, 2014).

No entanto, uma das desvantagens de se usar o adenovírus recombinante é o facto de que a maioria da população humana já ter imunidade contra este vírus, e como a resposta dominante induzida por esta vacina, é contra o adenovírus não há indução de resposta significativa contra a proteína do vírus EBOV (Ansari, 2014; Ye & Yang, 2014).

Outra abordagem é o vírus da encefalite equina da Venezuela (VEEV) com o gene GP EBOV, tendo já conferido proteção a primatas não humanos contra a espécie SUDV e EBOV. Embora se mantenha o mesmo obstáculo, acima destacado, a respeito da imunidade pré-existente deste vírus em seres humanos (Ye & Yang, 2014).

Outra abordagem é uma vacina com o vírus da raiva recombinante com o gene GP EBOV que já demonstrou proteger 100% dos murganhos, bem como protegeu 50% dos primatas não humanos infetados que foram testados (Papaneri et al., 2015). No entanto, existe uma preocupação inerente da eventual introdução de um novo vírus infeccioso para a população humana (Ansari, 2014; Ye & Yang, 2014).

Os trabalhos mais avançados concentram-se em duas vacinas: a primeira contendo o adenovírus recombinante inserida com o gene GP do EBOV, e a segunda contém vírus da estomatite vesicular recombinante inserido com o gene GP do EBOV, sendo que os estudos animais demonstraram eficácia e ausência de toxicidade (Pancer, 2015).

Existe ainda, outra vacina em desenvolvimento, que possivelmente entrará em fase de ensaios clínicos ainda em 2015, esta contém o vírus influenzae recombinante com o gene GP do EBOV e a vacina consiste em duas doses com duas vacinas diferentes, designadas por Ad26-EBOV e MVA-EBOV (Pancer, 2015). Esta vacina tem grande interesse a vários níveis, o primeiro é que a sua administração poderá ser efetuada por via respiratória e por outro lado pode servir também como vacina terapêutica para além de ser preventiva, especialmente se for administrada logo após a infeção (Ansari, 2014). No entanto, como acontece com o adenovirus, os seres humanos têm imunidade ao vírus influenzae interferindo assim na imunidade que realmente interessa, a do EBOV (Ansari, 2014).

Todas estas propostas enfrentam o problema da pré-existencia de vírus, ou da introdução de novos vírus na população humana, o que por um lado pode atenuar a imunogenicidade da resposta imune, por outro lado poderá ser uma preocupação da eventual introdução de um novo vírus (Ye & Yang, 2014).

Apesar das várias tentativas de desenvolvimento de uma vacina segura e eficaz ainda não existe nenhuma comercialmente disponível, ou que a FDA tenha aprovado (Meyers et al., 2015).

8.10.2. Vacinas de DNA

As vacinas de DNA expressam o gene GP do EBOV e foram testadas em ensaios clínicos de fase I em humanos demonstrando ser segura e imunogénica. Estas vacinas têm como vantagem, poder ser administradas repetidamente aumentando assim, a indução de respostas imunitária protetora. No entanto, ainda não foi testada a sua eficácia em modelos animais sendo esta etapa mais relevante para o desenvolvimento da vacina (Ye & Yang, 2014).

8.10.3. Vacinas com Partículas Semelhantes a Vírus(VLP)

Estas vacinas representam um conceito atraente no desenvolvimento de vacinas para os Filovírus. Estas vacinas também podem ser administradas repetidamente para indivíduos vacinados como já acontecia com as vacinas vetoriais (Ye & Yang, 2014).

As VLP são alvo atrativo para as células apresentadoras de antígenos como as células dendríticas que estimulam os anticorpos e a resposta imune, bem como têm

elevada versatilidade para serem manipuladas e incorporarem moléculas imunoestimulantes melhorando assim a resposta imune (Ye & Yang, 2014).

Já foi demonstrado, que as VLP EBOV quando administradas em combinação com um adjuvante, conferiram proteção em primatas não humanos, contra a infecção por EBOV, proporcionando a primeira evidência de que a imunidade protetora pode ser induzida por este tipo de vacinas (De Clercq, 2014; Ye & Yang, 2014).

Uma das principais vantagens deste tipo de vacinas é que se obtém rendimentos elevados reduzindo de forma significativa o custo de produção, através da produção de VLP EBOV em células de insetos, sendo as VLP morfologicamente e funcionalmente semelhantes às produzidos em células de mamíferos. Para além destas vantagens a utilização de linhas celulares de insetos, oferece segurança o que é importante no desenvolvimento de vacinas para uso humano. A eficácia de VLP EBOV produzido a partir de células de insetos, continua por determinar (Ye & Yang, 2014).

9. TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS

Os surtos causados por Filovírus, nomeadamente pelo EBOV e MARV, são imprevisíveis e esporádicos tornando difícil a realização de testes de eficácia de vacinas, de fase III, devido a problemas logísticos e a questões éticas (Ye & Yang, 2014).

Face à controvérsia se seria aceitável oferecer intervenções com tratamentos cuja base de evidência é limitada e se sim, a quem se deve fornecer este tipo de tratamento experimental durante um surto, a OMS convocou um grupo de especialistas em ética para discutirem estas questões (Meyers et al., 2015; Shah et al., 2015; World Health Organization, 2015a). Este grupo concluiu, por unanimidade, que nas circunstâncias particulares deste último surto, é ético oferecer intervenções não comprovadas para os quais ainda não foi demonstrada segurança e eficácia em humanos desde que certas condições fossem satisfeitas e que esses fármacos tenham já sido promissores *in vitro* e em animais (Shah et al., 2015; World Health Organization, 2015a). As condições são: deve haver uma forte base científica que confirme que a intervenção é eficaz contra o Filovírus em humanos; as intervenções deverão já ter demonstrado segurança e eficácia em modelos animais, nomeadamente, em primatas não humanos; e por fim, deve-se fazer a melhor avaliação possível de risco/ benefício a partir da informação disponível (World Health Organization, 2015a).

Esta questão relativamente à intervenção de tratamentos em humanos sem à priori se saber a verdadeira eficácia e/ou segurança tem sido discutida a vários níveis, nomeadamente na biodefesa. Tem que se ter em conta que os Filovírus, particularmente o EBOV e o MARV estão associados a doença infecciosa, sem tratamentos ou profilaxia eficazes, e que as infraestruturas de cuidados de saúde são bastante limitadas na maioria dos países de África Ocidental e Oeste, tornando assim, a doença mais difícil de controlar e tratar (Shah et al., 2015).

Os critérios éticos que devem guiar a prestação de tais intervenções devem incluir: a transparência sobre todos os aspetos dos cuidados; consentimento informado; liberdade de escolha; confidencialidade; respeito pela pessoa; preservação da dignidade; envolvimento da comunidade (World Health Organization, 2015a).

A FDA em 2002, introduziu a “regra animal”, que permite a aprovação de uma vacina candidata com base em ensaios de eficácia em modelos animais, com

demonstrações claras a nível imunológico e de proteção, bem como, ensaios clínicos de fase I e II para testar a imunogenicidade em seres humanos (Ye & Yang, 2014).

A OMS desenvolveu o processo EUAL, que é um procedimento especial para vacinas em caso de uma emergência de saúde pública quando a comunidade se dispõe à incerteza de eficácia e segurança dos fármacos, dada a mortalidade e défice de tratamento de determinadas doenças, tais como, o EBOV e MARV. O EUAL acelera assim, a disponibilidade de vacinas necessárias a doentes numa situação de emergência (World Health Organization, 2015b).

Obviamente que estes tratamentos não serão pagos pelas pessoas em necessidade, normalmente são as indústrias farmacêuticas que os financiam, pois quando estes tratamentos experimentais são planeados e executados de forma adequada, como se espera, a boa reputação destas indústrias eleva-se, por prestar ação humanitária a favor destas populações pobres na África sub-sariana em hora de necessidade (Bausch et al., 2008).

Devido à falta de confiança nalguns lugares da África Ocidental, na medicina ocidental, os profissionais de saúde nestes locais preferem oferecer intervenções plausíveis e não suscetíveis de causar danos significativos, e esta é uma preocupação legítima, uma vez que, esta confiança já entrou algumas vezes em colapso sendo preciso muito esforço para a recuperar e manter. Desta forma, resultaram regulamentos que regem a profissão médica nestes países, difíceis de transpor (Shah et al., 2015).

De facto, é um desafio envolver as comunidades locais nestes procedimentos, e é essencial que estes sejam aceites pela comunidade pois apesar dos surtos de Filovírus serem uma emergência de saúde pública, o consentimento informado continua a ser uma exigência ética. As pessoas vulneráveis, tais como mulheres grávidas, crianças ou pessoas com capacidade mental diminuída não devem ser arbitrariamente excluídas destes ensaios (WHO Ethics Working Group, 2014). Bem como, os profissionais de saúde devem estar bem informados sobre o ensaio e se concordam em ser implementadores do mesmo, e se sim, devem ser orientados e treinados e ser-lhes fornecido equipamentos e recursos necessários (WHO Ethics Working Group, 2014).

Durante os surtos de Filovírus, com impactos sociais e económicos devastadores, existe um senso de urgência para intervir, no entanto, as terapêuticas experimentais deverão estar em progressos de ensaios clínicos de fase I e II e já ter mostrado promessas em modelos animais. Dado o esmagador sofrimento humano

associado a estes surtos, dever-se-á explorar, por forma de acelerar, com segurança estas estratégias terapêuticas promissoras (Bausch et al., 2008).

10. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS

Os Filovírus têm os seus próprios reservatórios e animais suscetíveis no mundo natural. Os seres humanos, nomeadamente alguns povos africanos, tornam-se alvos fáceis quando entram em contato com a vida selvagem e invadem o ciclo da ecologia viral na natureza. Devido aos sistemas de saúde destas regiões serem precários, estabelece-se facilmente uma cadeia de transmissão e conseqüentemente o favorecimento de novos surtos.

Para além do isolamento, em casos de suspeita confirmados, dever-se-á apostar na inclusão de novos métodos de diagnóstico, mais rápidos, bem como, na administração de futuras vacinas profiláticas e tratamentos pós-exposição, não só às equipas médicas como também aos habitantes locais a fim de evitar infeções nosocomiais e ajudar a quebrar a cadeia de disseminação.

Se por um lado, a administração de fármacos como o ZMAPP, concomitante com antivirais de amplo espectro como o favipiravir, poder ser limitado, por incapacidade de resposta, no que diz respeito ao seu fornecimento em grandes quantidades, a utilização de vacinas terapêuticas e profiláticas poderá ativar a resposta imune adquirida, bem como, economizar os recursos de fármacos em áreas futuramente afetadas por estes vírus.

Após esta revisão bibliográfica foi possível constatar que muitos dos Filovírus ainda carecem de investigação e caracterização como é o caso do vírus Ravn, do vírus Tai forest, do vírus Bundibugyo e do vírus Lloviu. Os restantes como o vírus Ébola, o vírus Sudão e o vírus Marburg são mais estudados, uma vez, que têm ressurgido mais vezes e por serem os mais patogénicos. Não obstante, já foram dados largos passos no que respeita aos potenciais tratamentos das filovirose, apesar de continuar a ser relativamente complexo disponibiliza-los numa situação emergente e obter resultados experimentais em humanos.

Julgo também ser importante consciencializar gradualmente e constantemente as comunidades mais afetadas não sendo só nas alturas emergentes, para que estas possam estar mais alerta e terem uma maior capacidade de atuação e resposta nas alturas difíceis, bem como, melhorar e construir novas infraestruturas de centros de febres hemorrágicas. Relativamente à epidemiologia e ecologia dos Filovírus carece de muito

mais investigação para que se consiga quebrar mais depressa as potenciais vias de transmissão.

11. BIBLIOGRAFIA

- Agnandji, S. T., Huttner, a, Zinser, M. E., Njuguna, P., Dahlke, C., Fernandes, J. F., ... Addo, M. M. (2015). Phase 1 Trials of rVSV Ebola Vaccine in Africa and Europe — Preliminary Report, 1–14. doi:10.1056/NEJMoa1502924
- Ansari, A. a. (2014). Clinical features and pathobiology of Ebolavirus infection *. *Journal of Autoimmunity*, 55, 1–9. doi:10.1016/j.jaut.2014.09.001
- Bah, E. I., Lamah, M.-C., Fletcher, T., Jacob, S. T., Brett-Major, D. M., Sall, A. A., ... Fowler, R. a. (2015). Clinical Presentation of Patients with Ebola Virus Disease in Conakry, Guinea. *New England Journal of Medicine*, 372(1), 40–47. doi:10.1056/NEJMoa1411249
- Bausch, D. G., Sprecher, a. G., Jeffs, B., & Boumandouki, P. (2008). Treatment of Marburg and Ebola hemorrhagic fevers: A strategy for testing new drugs and vaccines under outbreak conditions. *Antiviral Research*, 78(1), 150–161. doi:10.1016/j.antiviral.2008.01.152
- Bray, M., & Geisbert, T. W. (2005). Ebola virus: the role of macrophages and dendritic cells in the pathogenesis of Ebola hemorrhagic fever. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 37(8), 1560–1566. doi:10.1016/j.biocel.2005.02.018
- Camacho, a, Kucharski, a J., Funk, S., Breman, J., Piot, P., & Edmunds, W. J. (2014). Potential for large outbreaks of Ebola virus disease. *Epidemics*, 9, 70–78. doi:10.1016/j.epidem.2014.09.003
- Centers for Disease Control and Prevention. (2014). Viral Hemorrhagic Fevers - Filoviridae. Consultado a 12 de agosto de 2015 e disponível em <http://www.cdc.gov/vhf/virus-families/filoviridae.html>
- Centers for Disease Control and Prevention. (2015a). Ebola (Ebola Virus Disease) - Diagnosis. Consultado a 15 de agosto de 2015 e disponível em <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/diagnosis/index.html>
- Centers for Disease Control and Prevention. (2015b). Guidance on Personal Protective Equipment (PPE) To Be Used By Healthcare Workers during Management of Patients with Confirmed Ebola or Persons under Investigation (PUIs) for Ebola who are Clinically Unstable or Have Bleeding, Vomiting, or Diarrhea in U.S. Consultado a 30 de agosto de 2015 e disponível em <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/healthcare-us/ppe/guidance.html>
- Centers for Disease Control and Prevention. (2015c). Outbreaks Chronology: Ebola Virus Disease. Consultado a 12 de agosto de 2015 e disponível em <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/outbreaks/history/chronology.html>

- Centers for Disease Control and Prevention. (2015d). Review of Human-to-Human Transmission of Ebola Virus. Consultado a 12 de agosto de 2015 e disponível em <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/transmission/human-transmission.html>
- Chemical Safety Specialists. (2015). Disponível em <http://www.chemicalsafety.com.au/awareness-posters2>
- De Clercq, E. (2014). Ebola virus (EBOV) infection: therapeutic strategies. *Biochemical Pharmacology*, 93(1), 1–10. doi:10.1016/j.bcp.2014.11.008
- Falzarano, D., & Feldmann, H. (2014). Possible leap ahead in filovirus therapeutics. *Cell Research*, 24(6), 1–2. doi:10.1038/cr.2014.49
- Feldman, H., & Geisbert, T. (2012). NIH Public Access. *Lancet*, 377(9768), 849–862. doi:10.1016/S0140-6736(10)60667-8.Ebola
- Feldmann, H., & Geisbert, T. W. (2011). Ebola haemorrhagic fever. *The Lancet*, 377(9768), 849–862. doi:10.1016/S0140-6736(10)60667-8
- Formenty, P. (2014). *Ebola Virus Disease. Emerging Infectious Diseases*. Elsevier Inc. doi:10.1016/B978-0-12-416975-3.00009-1
- Goeijenbier, M., Van Kampen, J. J. A., Reusken, C. B. E. M., Koopmans, M. P. G., & Van Gorp, E. C. M. (2014). Ebola virus disease: a review on epidemiology, symptoms, treatment and pathogenesis, 2(9), 442–448.
- Goldsmith, C. S. (2014). Morphologic differentiation of viruses beyond the family level. *Viruses*, 6(12), 4902–13. doi:10.3390/v6124902
- Groseth, A., Feldmann, H., & Strong, J. E. (2007). The ecology of Ebola virus. *Trends in Microbiology*, 15(9), 408–16. doi:10.1016/j.tim.2007.08.001
- Joel G. Breman, M.D., D.T.P.H., and Karl M. Johnson, M. D. (2014). Ebola then and Now. *The New England Journal of Medicine*, 371;18, 1663– 1666.
- Koehler, J. W., Hall, A. T., Rolfe, P. A., Honko, A. N., Palacios, G. F., Fair, J. N., ... Minogue, T. D. (2014). Development and Evaluation of a Panel of Filovirus Sequence Capture Probes for Pathogen Detection by Next-Generation Sequencing. *PLoS ONE*, 9(9), e107007. doi:10.1371/journal.pone.0107007
- Kuhn, J. H., Andersen, K. G., Bào, Y., Bavari, S., Becker, S., Bennett, R. S., ... Nichol, S. T. (2014). Filovirus RefSeq entries: evaluation and selection of filovirus type variants, type sequences, and names. *Viruses*, 6(9), 3663–82. doi:10.3390/v6093663
- Li, H., Ying, T., Yu, F., Lu, L., & Jiang, S. (2015). Development of therapeutics for treatment of Ebola virus infection. *Microbes and Infection*, 17(2), 109–117. doi:10.1016/j.micinf.2014.11.012

- MacIntyre, C. R., Chughtai, A. A., Seale, H., Richards, G. a., & Davidson, P. M. (2014). Respiratory protection for healthcare workers treating Ebola virus disease (EVD): Are facemasks sufficient to meet occupational health and safety obligations? *International Journal of Nursing Studies*, *51*, 1421–1426. doi:10.1016/j.ijnurstu.2014.09.002
- 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. *The 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
- 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
- Mire, C. E., Geisbert, J. B., Agans, K. N., Satterfield, B. a., Versteeg, K. M., Fritz, E. a., ... Geisbert, T. W. (2014). Durability of a vesicular stomatitis virus-based marburg virus vaccine in nonhuman primates. *PLoS ONE*, *9*(4), 1–7. doi:10.1371/journal.pone.0094355
- Ng, S., Basta, N. E., & Cowling, B. J. (2014). Association between temperature , humidity and ebolavirus disease outbreaks in Africa , 1976 to 2014, 1–11.
- Nocht, B. (2014). which, *346*(6210), 684–685.
- Oestereich, L., Lüdtke, A., Wurr, S., Rieger, T., Muñoz-Fontela, C., & Günther, S. (2014). Successful treatment of advanced Ebola virus infection with T-705 (favipiravir) in a small animal model. *Antiviral Research*, *105*(1), 17–21. doi:10.1016/j.antiviral.2014.02.014
- 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
- Pancer, K. (2015). SELECTED ASPECTS OF FILOVIRUSES Department of Virology, (3), 15–21.
- Papaneri, A. B., Bernbaum, J. G., Blaney, J. E., Jahrling, P. B., Schnell, M. J., & Johnson, R. F. (2015). Controlled viral glycoprotein expression as a safety feature in a bivalent rabies-ebola vaccine. *Virus Research*, *197*, 54–58. doi:10.1016/j.virusres.2014.11.028
- Patanè, S. (2014). Ebola: Is there a hope from treatment with cardiovascular drugs? *International Journal of Cardiology*, *177*(2), 524–526. doi:10.1016/j.ijcard.2014.08.114

- Picazo, E., & Giordanetto, F. (2014). Small molecule inhibitors of ebola virus infection. *Drug Discovery Today*, 20(2), 277–286. doi:10.1016/j.drudis.2014.12.010
- Roddy, P. (2014). A Call to Action to Enhance Filovirus Disease Outbreak Preparedness and Response. *Viruses*, 6(10), 3699–3718. doi:10.3390/v6103699
- Ross, A. G. P., Olveda, R. M., & Yuesheng, L. (2014). International Journal of Infectious Diseases Are we ready for a global pandemic of Ebola virus ? *International Journal of Infectious Diseases*, 28, 217–218. doi:10.1016/j.ijid.2014.09.001
- Sarwar, U. N., Costner, P., Enama, M. E., Berkowitz, N., Hu, Z., Hendel, C. S., ... Renehan, P. (2014). Safety and Immunogenicity of DNA Vaccines Encoding Ebolavirus and Marburgvirus Wild-Type Glycoproteins in a Phase I Clinical Trial. *Journal of Infectious Diseases*, 211(4), 549–557. doi:10.1093/infdis/jiu511
- Shah, S. K., Wendler, D., & Danis, M. (2015). Examining the Ethics of Clinical Use of Unproven Interventions Outside of Clinical Trials During the Ebola Epidemic. *The American Journal of Bioethics*, 15(4), 11–16. doi:10.1080/15265161.2015.1010996
- Smither, S. J., Eastaugh, L. S., Steward, J. a., Nelson, M., Lenk, R. P., & Lever, M. S. (2014). Post-exposure efficacy of Oral T-705 (Favipiravir) against inhalational Ebola virus infection in a mouse model. *Antiviral Research*, 104(1), 153–155. doi:10.1016/j.antiviral.2014.01.012
- Thi, E. P., Mire, C. E., Ursic-Bedoya, R., Geisbert, J. B., H. Lee, a. C., Agans, K. N., ... Geisbert, T. W. (2014). Marburg virus infection in nonhuman primates: Therapeutic treatment by lipid-encapsulated siRNA. *Science Translational Medicine*, 6(250), 250ra116–250ra116. doi:10.1126/scitranslmed.3009706
- Wong, G., Qiu, X., Olinger, G. G., & Kobinger, G. P. (2014). Post-exposure therapy of filovirus infections. *Trends in Microbiology*, 22(8), 456–463. doi:10.1016/j.tim.2014.04.002
- World Health Organization. (2014a). *Clinical management of patient with VHF*. WHO.
- World Health Organization. (2014b). *Potential Ebola therapies and vaccines*.
- World Health Organization. (2015a). Ebola vaccines, therapies, and diagnostics. Consultado a 31 de agosto e disponível em http://www.who.int/medicines/emp_ebola_q_as/en/
- World Health Organization. (2015b). *Emergency Use Assessment and Listing Procedure (EUAL) for candidate vaccines for use in the context of a public health emergency Introduction*. WHO.

World Health Organization. (2015c). *Manual for the care and management of patients in Ebola Care Units/ Community Care Centres*. WHO. Disponível em <http://www.who.int/csr/resources/publications/ebola/patient-care-CCUs/en/>

World Health Organization. (2015d). *Selection and use of Ebola in vitro diagnostic (IVD) assays*.

Ye, L., & Yang, C. (2014). Development of Vaccines for prevention of Ebola virus infection. *Microbes and Infection / Institut Pasteur*, 17(2), 98–108. doi:10.1016/j.micinf.2014.12.004