

Medicinska edukacija PRETEĆI VIRUSI – EBOLA VIRUS
/ Medical education EMERGING VIRUSES – EBOLA VIRUS

Correspondence to:

Prof.dr sc.med. **Nada Kuljić-Kapulica**

Alekse Nenadovića 29
11.000 Beograd
063-8705811
011-3444-028
nadakuljic@gmail.com

Nada Kuljić-Kapulica, Danijela Đurić-Petković*

*Institut za mikrobiologiju, Vojnomedicinska akademija, Beograd

Ključne reči

Ebola virus, bolest, dijagnoza, terapija

Key words

Ebola virus, disease,
diagnosis, therapy.

Sažetak

Ebola virus izaziva tešku i često smrtonosnu formu hemoragične groznice. Mortalitet bolesti se kreće od 25 do 90 procenata. Ebola se smatra pretećom infektivnom bolesti. Epidemije bolesti izazvanih Ebola virusom se najčešće dešavaju u afričkim zemljama. Na Ebola virus skrenuta je pažnja u svetu 2014. godine kada je došlo do pojave velike epidemije u zapadnoj Africi.

UVOD

Preteće ili novoiskrsle (emerging) infektivne bolesti menjaju mape bolesti i ljudi i životinja u svetu. Primeri za ove bolesti u poslednje dve dekade su sve brojniji: SARS, ptičji grip, MERS, Ebola virus (EV). Uzroci pojave ovih bolesti kao i novih epidemija su višestruki, a obuhvataju brojne poznate ali i jos neprepoznate faktore. Neki od poznatih faktora za pojavu ovih agenasa su pokretljivost populacije, globalna trgovina kao i klimatske promene koje doprinose da se geografska distribucija vektora virusa menja. To je značajno pošto su većina ovih bolesti zoonoze (više od 50%).

Na taj način kontrola vektora ili promena njihove životne sredine postaje jos više komplikovana, ali predstavlja i opasnost od javljanja infektivnih bolesti.

S tim je povezana i potencijalna opasnost od bioterorizma zbog pojava novih infektivnih agenasa u zonama gde nikada ranije nisu postojali.

Jedan od svežih primera pojava pretećih infektivnih bolesti je epidemija uzrokovana Ebola virusom u zapadnoj Africi 2014. godine. Opisuje se kao najveća epidemija ovim virusima u istoriji.

EBOLA VIRUS

Ebola virus pripada familiji Filoviridae, koja se sastoji od dva roda, Ebola i Marburg virusi. Ovi virusi spadaju u najvirulentnije patogene kod ljudi. Virus Marburg dobio je naziv po gradu gde je prvi put izolovan, a Ebola virus po reci u Zairu gde je prvi put opisana bolest.

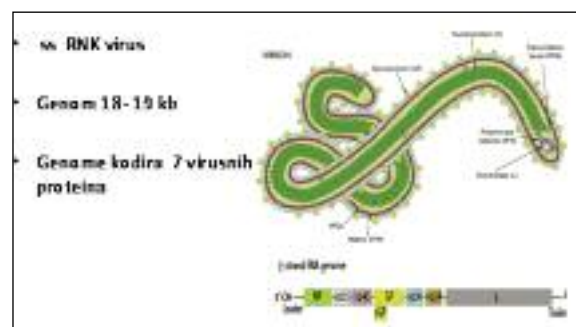
Virusne čestice Filovirusa su pleomorfne, u obliku dugih niti (filamentozni oblik; filum lat. znači nit) ili kuglaste. Kod filamentoznih obika dužina čestice iznosi od 790nm (Marburg virus) do 970nm (Ebola virus) i više; prečnik viriona je oko 80nm; imaju helični nukleokapsid i lipidni

omotač koji stiču od ćelijske membrane domaćina. Na spoljašnjem omotaču nalaze se izdanci, glikoproteinske prirode veličine oko 10nm kojima se virus vezuje za osetljive ćelije i predstavljaju metu za neutrališuća antitela.



Slika 1: Ebola virus

Genom virusa čini jednostruki nesegmentirani lanac RNK veličine oko 19kb. Filovirusi kodiraju 7 proteina: nukleoprotein(NP), glikoprotein (GP), RNK zavisnu polimerazu i strukturne proteine označene kao VP24, VP30, VP35 i VP40.



Slika 2. Virion Ebola virusa

Rod Ebolavirus ima 5 specijesi: Ebola (raniji naziv Ebola Zair), Sudan, Reston, Tai Forest (ranije Cote d'Ivoire) i Bundibugyo (1,2,3).

Virusi se mogu inaktivirati na temperaturi od 60°C za 30 minuta, kao i UV i gama zracima.

Virus je osjetljiv na standardna dezinfekciona sredstva: fenol, lipidne rastvarače, hipohlorit, beta-propionlakton.

EPIDEMIOLOGIJA

Godine 1976. u Zairu i Sudanu su opisane prve epidemije izazvane Ebola virusom sa više od 425 obolelih i 224 umrlih osoba. Tada je prvi put izolovan Ebola virus (4).

Posle izolacije virusa javljale su povremeno epidemije u pojedinim zemljama Afrike: Sudan 1977, Obala Slonovače 1994, Gabon, Filipini 1996, Kongo 2001 i dr. Jedan od poslednjih velikih epidemija Ebola virusom bila je u Ugandi 2000/2001. sa 425 obolelih i 224 smrtna slučaja.

Infekcije Ebola virusima su endemske u Africi. Najčešći uzročnici epidemija bili su specijesi Ebola i Sudan.

Prirodni rezervoar nije poznat. Infekcije se prenose sa čoveka na čoveka ili sa životinja ili antropoda. Epidemije nastaju posle direktnog kontakta sa bolesnicima, a ređe posle kontakta sa nehumanim primatima.

Do infekcije dolazi ulaskom virusa preko mikrooštećenja na koži i sluzokoži. Osetljive ćelije su endotelne ćelije: monociti, makrofazi, dendritične ćelije. Virus se preko svojih glikoproteina vezuje za receptore na osjetljivim ćelijama. U organima limfnog tkiva dolazi do primarne virusne replikacije. Inficirane ćelije migriraju u regionalne limfne čvorove, jetru i slezinu i diseminuju infekciju.

Infekcije EV se prenose direktnim kontaktom preko krvi i telesnih tečnosti. Prenošenje aerosolom je moguće i retko. Prenošenje preko sperme je moguće i traje oko 2 meseca. Rizik od prenošenja je najveći za vreme poslednjeg stadijuma bolesti, kada se javljaju povraćanje, dijareja, šok i hemoragije (5).

Tokom epidemija dolazi do interhumanog prenošenja bolesti direktnim kontaktom, pa su opisane i prve intrahospitalne infekcije. Zbog toga se u slučaju pojave epidemije izazvanih ovim virusima sprovode stroge zaštitne mere posebno pri radu sa krvi, sekretima i ekskretima obolelih i inficiranim životinjama.

Zbog visoke kontagioznosti i letatiteta spadaju u grupu bioloških agenasa (6, 7).

Avgusta 2014. došlo je do pojave najnovije i najveće epidemije Ebola virusom u Africi. Ova bolest se prenosila i van granica Afrike, tako da je SZO proglasila opasnost od svetske epidemije izazvane Ebola virusom (8).



Slika 3. Mapa epidemije Ebole u južnoj Africi

Smatra se da je prvi bolesnik bio dvogodišnji dečak koji je umro 6.12.2013. u Gvineji. Dečak je najverovatnije zaražen posle kontakta sa životinjom koja je bila nosilac virusa. Bolest se kasnije interhumano prenela na druge osobe, izazvala epidemiju u nekoliko zemalja zapadne Afrike. U ovoj epidemiji najviše su bile zahvaćene Gvineja, Liberija, Sijera Leone. Tokom ove epidemije EV je zaraženo 27.621 osoba i registrovano je 11.268. smrti po izveštaju SZO do 10. jula 2015 (9,10,11)

ZNACI BOLESTI

Klinički znaci EV bolesti su u početku nespecifični i varijabilni.

Kliničke manifestacije se obično javljaju posle inkubacije od 4 do 10 dana u proseku 2-21 dan.

Početni znaci su: povišena temperatura, glavobolja, raš, muka, povraćanje, dijareja, abdominalni bol, bolovi u zglobovima i mišićima, malaksalost.

Bolest često ima nagli početak, kada se javlja hemoragijski sindrom koji se karakteriše petehijama, purpustom, krvarenjem iz mukoznih membrana i konjunktiva, hematurijom, hematemezom i melenom (5, 12).

Bolest se karakteriše i multisistemskim zahvatanjem različitih organa i sistema: gastrointestinalni, respiratorni, vaskularni i pojavom neuroloških simptoma i krvarenja sluznica. U kasnijem stadijumu javljaju se šok, konvulzije i metabolički poremećaji.

EB se može manifestovati gastrointestinalnim simptomima (muka, bolovi u stomaku, povraćanje i dijareja), neurološkim simptomima (glavobolja, duboka slabost i koma), respiratornim simptomima (kašalj, dispneja, rinoreja) i generalizovanim simptomima sa insuficijencijom kardiovaskularnog sistema što dovodi do šoka i edema.

Najčešći simptomi su povišena temperatura u kombinaciji sa anoreksijom i makulopapulozni raš između 5 i 7 dana od početka bolesti; u trenutnoj epidemiji primarni klinički znaci su gastrointestinalni.

Tabela 1. Simptomi bolesti

1. Opšti simptomi (0-3 dana)
 - povišena temperatura
 - glavobolja
 - muka
 - slabost
 - umor
2. Gastrointestinalni simptomi (3-10 dana)
 - povraćanje
 - dijareja
 - abdominalni bol
3. Teški simptomi (7-12 dana)
 - teška dijareja i povraćanje
 - krvarenje

Kod bolesnika sa fatalnim ishodom javljaju se klinički znaci rano u početku infekcije i između 6 i 16 dana dolazi do hipovolemičnog šoka i multiorganske insuficijencije.

Zahvaćeni su jetra i bubrezi, kao i drugi unutrašnji organi.

Hemoragije mogu biti teške ali se javljaju u oko polovine obolelih, u poslednjoj epidemiji javile su se kod oko 30% obolelih.

Zaire species Ebola virusa je uzročnik poslednje epidemije 2014-2015 u zapadnoj Africi, u kojoj je smrtnost iznosila oko 70 procenata, dok se u ranijim epidemijama kretala od 80 do 90 procenata (3).

U nefatalnim slučajevima povišena temperatura traje nekoliko dana, pa dolazi do oporavka 6-11 dana, kada je prisutan imuni odgovor.

U literaturi su opisani najčešći simptomi u trenutnoj epidemiji u zapadnoj Africi a to su: povišena temperatura (87%), povraćanje (68%), proliv (66%), gubitak apetita (65%), glavobolja (53%), abdominalni bol (44%) i mijalgija (39%) (10).

Dugotrajne komplikacije nisu poznate, ali kod bolesnika mogu dugo biti prisutni simptomi, ali se mogu javiti i poremećaji kao što su rekurentni hepatitis, mijelitis, psihoza, uveitis.

LABORATORIJSKA DIJAGNOZA

Na infekciju izazvanu Ebola virusom se posumnja kod bolesnika sa akutnom febrilnom bolesti sa kliničkim simptomima i istorijom boravka u endemskim krajevima. Početna dijagnoza infekcija izazvanih Ebola virusom se postavlja na osnovu kliničkih znakova bolesti.

Virusološka dijagnostika se izvodi na dva načina: dokazivanjem specifičnih antitela ili dokazivanjem virusa ili delova virusa.

Za dijagnostiku ovih virusa potrebno su posebno opremljene referentne laboratorije sa najvišim nivoom biozaštite (biosafety level 4- BSL-4)(13).

Uzorci se uzimaju sa merama posebne zaštite, inaktiviraju pre izvođenja testova i bezbedno čuvaju.

Virus indukuje stvaranje antitela, a antitela IgM klase se javljaju 4-7 dana od početka bolesti. U periodu pre pojave IgM antitela dijagnoza se može dobiti samo molekularnim testovima odnosno dokazivanjem virusnog genoma pomoću PCR testa.

Na ovaj način virus se može dokazati 48 sati posle infekcije i kod letalnih i kod neletalnih bolesnika. To znači da negativan test u prvih 48 sati posle ekspozicije ne znači da ne postoji infekcija.

Zbog brzog razvoja bolesti serologija ne igra značajnu ulogu u dijagnostici akutne EB infekcije ali može biti korisna kasnije za dokazivanje infekcije ili u epidemiološkim istraživanjem. Uopšte, IgM antitela se mogu dokazati 4-7 dana od pojave prvih simptoma, i ova antitela nestaju posle 30-170 dana. IgG antitela se javljaju između 6 i 18 dana posle početka bolesti i ostaju detektibilna godinama (14,15). Serološka dijagnostika se radi testovima imunofluorescencije i ELISA testom.

U referentnim i specijalizovanim laboratorijama mogu se raditi i ostale virusološke metode dokazivanja virusa: elektronska mikroskopija, detekcija virusnog antigena ili izolacija virusa uz najstrožije mere biološke zaštite (1, 12).

Prema tome, laboratorijska potvrda infekcije Ebola virusom zahteva: ili dokazivanje virusne RNK, i/ili Ebola antigena, i/ili dokazivanje specifičnih IgM antitela.

LEČENJE, PREVENCIJA I KONTROLA

Za lečenje EV infekcija ne postoji specifična terapija, već se primenjuje samo simptomatska terapija. Postoji više pokušaja spravljanja vakcina za široku upotrebu koji se ispituju.

Posle pojave bolesti ili izbijanja epidemije preduzimaju se značajne mere prevencije posebno u intrahospitalnim uslovima. Bolesnika treba izolovati i preduzeti maksimalne mere zaštite u odnosu na krv i druge sekrete i ekskrate bolesnika koje sadrže virus. Osoblje koje leči i neguje bolesnika treba da nosi zaštitnu odeću, rukavice, naočare, i primenjuje se stroge mere dezinfekcije (9).

Terapija

Trenutno terapija infekcija izazvanih Ebola virusom obuhvata primenu suporativne terapije. Kod obolelih se primenjuju mere za uspostavljanje normalne hemodinamike i hemostaze. Nadoknada tečnosti u ranoj fazi bolesti drastično povećava šanse za preživljavanje.

Generalno se za lečenje bolesti izazvanih Ebola virusom koristi se razni preparati kao što su: serum rekonvalescenta, monoklonska antitela, antivirusni lekovi.

1. U lečenju infekcija izazvanih EV primenjuje se pasivna terapija transfuzije krvi od rekonvalescenta. U ovoj metodi lečenja koristi se krv ili plazma od rekonvalescentnih osoba. Međutim, kod primene ove terapije postoji dosta ograničenja kao što su nedostatak opreme za transfuziju ili uslova za uspešno uzimanje krvi od rekonvalescenta. Isto tako postoje ograničenja i u dobijanju produkata od rekonvalescentnih osoba (16).

2. U novije vreme primena monoklonskih antitela (moAt) je zamenjuje predhodni vid terapije.

Pokazalo se da MoAt protiv glikoproteina na omotaču Ebola virusa imaju neutrališuću aktivnost na virus. Najčešće se koristi koktel monoAt pod nazivom Zmapp. On se sastoji od tri monoklonska At protiv glikoproteina Ebola virusa.

U najnovijoj epidemiji EV zMapp se koristio u lečenju kod ograničenog broju obolelih ljudi. U eksperimentalnim uslovima na nehumanim primatima je pokazano da je efikasan kod bolesti izazvane EV ako se primeni do 5 dana posle infekcije (17).

3. Od antivirusnih agenasa primenjuju se ali i ispituju različiti se nukleozidni analozi.

Favipiravir, je nukleozidni analog koji je selektivni inhibitor replikacije virusa gripa sa minimalnom citotoksičnošću. Trenutno se primenjuje u Japanu kod ljudi sa infekcijom virusom influence. Sem upotrebe kog virusa gripa lek se pokazao efikasnim i kod pojedinih RNK virusa. Dokazano je da inhibira replikaciju EV u in vitro uslovima (18).

Brincidofovir se proučava za primenu kod mnogih DNK virusa. Pokazao je efikasnost u eksperimentalnim uslovima posebno kod CMV i Adeno virusa, a primenjen je i u terapiji EV infekcije.

Od ostalih antivirusnih lekova treba pomenuti npr. TKM-ebola i EVI-6002 koji se proučavaju za lečenje EV infekcija, ali postoje brojna ispitivanja i drugih preprata (9,14,19).

Vakcine

Trenutno ima više kandidata vakcina za prevenciju bolesti izazvanih EV.

1. Prva rekombinantna vakcina u kojoj je genetski izmenjen rVSV (virus vezikularnog stomatitisa) da izaziva imuni odgovor protiv EV napravljena je u Kanadi.

Vakcina VZV-ZEBOV- predstavlja atenuirani rekombinantni virus vezikularnog stomatitisa (serotip Indijana), koji je genetski izmenjen da ekspresuje površne proteine Zair Ebola virusa (Kikwit) soj.

Pokazalo se da je ova vakcina efikasna u profilaksi u animalnom modelu. Ova vakcina je primenjena kod ograničenog broju ljudi u poslednjoj epidemiji Ebola virusa u zapadnoj Africi (20,21).

2. Druga vakcina, cAd3-EBO je napravljena u SAD, a zasniva se na Adenovirusu šimpanza.

U ovoj vakcini je adenovirus šimpanza (Ad3) genetski izmenjen tako da ekspresuje površne proteine od 2 speciosa EV (Zair i Sudan).

U eksperimentalnom modelu na šimpanzama pokazano je da daje 100% zaštitu (5,22).

Tabela 2. Vakcine protiv EV

Rekombinantne vakcine

1. VZV-ZEBOV

Vakcina sa v.vesicularnog stomatitisa

Kanada, SAD

2. cAd3-EBO

Vakcine sa Adeno 3 virusom

SAD

3. Triazoverin

Vakcine sa Para3 virusom

Rusija

Postoje i drugi pokušaji stvaranja efikasne vakcine u borbi protiv EV bolesti (23,24).

Vakcina VSV-ZEBOV primenjena je u poslednjoj velikoj epidemiji Ebola virusa u Africi tokom 2015. godine.

Vakcinacija VSV-ZEBOV počela je marta 2015 tokom epidemije ebole u Gvineji i obuhvatila 7651 volontera, koje su bili kontaktu sa obolelim osobama. Urađena je tzv. vakcinacija prstena (ring vaccination).

Vakcinacija je obavljena na dva načina: 4123 osoba je dobilo vakcinu odmah posle kontakta, a ostalih 3528 osoba posle 3 nedelje. Vakcinacija je trajala do jula 2015.g.

Vakcinacija je pokazala da je efikasnost kod osoba koje su odmah primile vakcinu bila 100%, dok je u drugoj grupi koja je primila vakcinu posle 3 nedelje od kontakta 16 osoba imalo simptome ebole posle 10 dana.

Neželjeni efekti su praćeni do 12 nedelja posle vakcinacije i registrovana je najčešće povišena temperatura (25).

Ovi rezultati su pokazali da je ova vakcina efikasna u prevenciji bolesti izazvane Ebola virusom, ali je nepoznato koliko dugo traje zaštita.

ZAKLJUČAK

Ebola virusi izazivaju hemoragijske groznice sa visokim letalitetom i endemični su u Africi.

Zbog visoke smrtnosti, interhumanog prenošenja, nedostatka antivirusne terapije i vakcine za široku upotrebu Ebola virusi su klasifikovani u grupu A bioloških agenasa i u radu sa njima potreban najviši nivo zaštite (biosafety level 4- BSL-4).

Za proučavanje Ebola virusa potrebna je posebna oprema, stroga kontrola i dobro uvežbano osoblje.

Posebno je takodje dosta istraživanja o tome na koji način se virus prenosi i kako izaziva bolest.

Abstract

Ebola virus causes a severe and often deadly hemorrhagic fever. Mortality rates for disease range from 25 percent to 90 percent. Ebola is considered an emerging infectious disease. Epidemics of Ebola virus have occurred mainly in African countries.

The Ebola virus gained widespread attention in the 2014 when an outbreak in West Africa became the largest filovirus outbreak reported in history.

LITERATURA

1. Geisbert TW, Jahrling PB. Differentiation of filoviruses by electron microscopy. *Virus Res* 1995; 39:129-50.
2. Peters CJ, Khan AS. Filovirus diseases. *Curr Top Microbiol Immunol* 1999; 235:85-95.
3. Kuhn JH, Becker S, Ebihara H et al. Proposal for a revised taxonomy of the family Filoviridae: classification, names of taxa and viruses, and virus abbreviations. *Arch Virol* 2010;155:2083-103.
4. Bowen ETW, Lloyd G, Harris WJ et al. Viral haemorrhagic fever in southern Sudan and northern Zaire. Preliminary studies on the aetiological agent. *Lancet* 1977; 1:571-573.
5. Feldmann H, Geisbert TW. Ebola haemorrhagic fever. *Lancet* 2011;377:849-62.
6. Cenciarelli O, Gabbarini V, Pietropaoli S, Malizia A, Tamburrini A et al. Viral bioterrorism: Learning the lesson of Ebola virus in West Africa 2013-2015. *Virus Research* 2015; 210; 318-326.
7. Kuljić-Kapulica Nada. *Virusi kao biološko oružje*. U: Biološko oružje, Vojnoizdavački zavod 2003. Beograd.
8. Baize S, Pannetier D, Oestereich L et al. Emergence of Zaire Ebola virus in Guinea. *N Engl J Med* 2014;371:1418-25.
9. A. Mirazimi. Ebola virus disease: societal challenges and new treatments. *J of Internal Medicine* 2015;278(10): 227-237.
10. Team Whder, Aqua-Agum J, Ariyarajah A, Aylward B et al. West African Ebola epidemic after one year-showing but not yet under control. *N Engl J Med* 2015; 372:584-7.
11. WHO. <http://who.int/csr/disease/ebola/situation-reports/en/>. WHO.2015
12. Kortepeter MG, Bausch DG, Bray M. Basic clinical and laboratory features of filoviral hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 2011;204:S8 10-16.
13. William B. Millard. Channeling, high-level biocontainment and research. *Annals of Emergency Medicine* 2015; 65(2):A15-A22.
14. M. Goeijenbier et al. Ebola virus disease: a review on epidemiology, symptoms, treatment and pathogenesis. *Neth J Med* 2014; 72(9):442-8.
15. Wedmann M, Muhlberger E, Hufert FT. Rapid detection protocol for filoviruses. *J Clin Virol* 2004; 30(1): 94-9.
16. Mupapa K, Massamba M, Kibadi K et al. Treatment of Ebola hemorrhagic fever with blood transfusions from coalescent patients. International Scientific and Technical Committee. *J Infect Dis* 1999;179:S18-S23.
17. Qiu X, Wang G, Andet J et al. Reversion of advanced Ebola virus disease in nonhuman primates with Zmapp. *Nature* 2014;514(7520):47-53.
18. Furuta Y, Gowen BB, Takahashi K, Shiraki K, Smeets DF, Barnard DL. Favipiravir (T-705), a novel viral RNA polymerase inhibitor. *Antiviral. Res.* 2013;100:446-54.
19. Hague A, Hober D, Blondaux S. Addressing therapeutic options for Ebola virus infection in current and future outbreaks. 2015; 59(10): 5892-5902.
20. Marz A, Feldmann H, Geisbert TW, Falzarano D. Vesicular stomatitis virus-based vaccines for prophylaxis and treatment of filovirus infections. *J Bioterror Bidef* 2011; S1(4).
21. Angela Huttner, Julie-Anne Dayer, Sabine Yerly, Christophe Combescure, Floriane Andersset, Jules Desmeules et al. The effect of dose on the safety and immunogenicity of the VSV Ebola candidate vaccine: a randomised double-blind, placebo-controlled phase 1/2 trial. *The Lancet Infectious Diseases* 2015; 15: 1156-1166.
22. Stanley DA et al. Chimpanzee adenovirus vaccine generates acute and durable protective immunity against ebolavirus challenge. *Nature Med* 2014; 20, 1126-1129.
23. Giovanni Rezza. A vaccine against Ebola: problems and opportunities. *Human vaccines & Immunotherapeutics* 2015; 11(5):1258-1260.
24. Ye L, Yong C. Development of vaccine for prevention of Ebola virus infection. *Microbes Infect* 2015; 17(2): 98-108.
25. Henao-Restrepo AM, Longini IM, Egger M, Dean NE, Edmunds WJ, Camacho MW, et al. Efficacy and effectiveness of an rVSV-vectored vaccine expressing Ebola surface glycoprotein: interim results from the Guinea ring vaccination cluster-randomised trial. *Lancet* 2015; 386(9996):857-66.