

Juan C. Hurtado¹
Miguel J. Martínez^{1,2}

Actualización en la infección por el virus Ébola

¹Servicio de Microbiología, Hospital Clinic i Provincial de Barcelona

²ISGlobal, Barcelona Ctr. Int. Health Res. (CRESIB), Hospital Clinic - Universitat de Barcelona

RESUMEN

La enfermedad por virus Ébola se convirtió en una preocupación mundial a raíz de la última epidemia originada en África Occidental en 2014. La epidemia actual ha afectado a 10 países en 3 continentes, con una mortalidad global estimada alrededor del 41% y ha puesto de manifiesto cómo una enfermedad en principio restringida al continente africano puede afectar directa o indirectamente a muchos otros países del mundo. En este trabajo revisamos diferentes aspectos del virus, la enfermedad y la epidemia actual.

Palabras clave: Virus ébola, epidemiología, patogenia, diagnóstico, tratamiento

Update on Ebola virus infection

ABSTRACT

Ebola virus disease became a major global public health concern after the last outbreak originated in West Africa in 2014. The epidemic has affected 10 countries in 3 continents, with an estimated global mortality of 41%, highlighting how a disease known to be restricted to the African continent can affect directly or indirectly many countries in the world. In this work, we review different aspects of the virus, the disease and the current outbreak.

Key words: Ebola virus, epidemiology, pathogenesis, diagnosis, therapy

La familia *Filoviridae* (orden *Mononegavirales*) está compuesta por virus con envuelta y una molécula de ARN lineal no segmentado de polaridad negativa como material genético. Los géneros *Ebolavirus* y *Marburgvirus* causan enfermedad severa en humanos. Dentro del género *Ebolavirus* hay cinco virus reconocidos: virus Ébola (1976), virus Sudán (1976), virus Reston (1989), virus Tai Forest (1992-94) y virus Bundibugyo (2007), y cada uno representa una especie diferente de virus (*Zaire ebolavirus*, *Sudan ebolavirus*, *Reston ebolavirus*, *Tai Forest ebolavirus* y *Bundibugyo ebolavirus*). Por su parte, el género *Marburgvirus* contiene una sola especie (*Marburg marburgvirus*, 1967) y dos virus distintos se han identificado en este género, los virus Marburg y Ravn. La actual epidemia de África Occidental está causada por una cepa de *Zaire ebolavirus* (EBOV) que muestra un 97% de similitud en su material genético con cepas de Ébola descritas previamente en la República Democrática del Congo y en Gabón. En el año 2011, la secuencia genética de un nuevo filovirus fue descubierta en tejidos de murciélagos muertos recolectados en el norte de España durante el 2002. Este virus aún no ha sido aislado en cultivo celular y su potencial patogénico para el ser humano es desconocido, pero representa el tercer género de filovirus (*Cuevavirus*), el cual está formado por una sola especie (*Lloviu cuevavirus*, ya aprobada por el comité internacional de taxonomía de virus (ICTV))¹.

El genoma del virus Ébola contiene siete genes denominados nucleoproteína (NP), proteína del virión (VP) 35, VP40, glicoproteína (GP), VP30, VP24 y L. Cada uno de esos genes, codifica para una proteína estructural correspondiente. Además, a través de un mecanismo de edición transcripcional del gen GP, al menos dos proteínas son sintetizadas, la GP de superficie y una glicoproteína no estructural que es secretada desde células infectadas (sGP). Las proteínas principales que son usadas como dianas de tratamientos experimentales son la NP, VP35, GP, VP24 y la polimerasa L. La nucleoproteína es el principal componente de la nucleocápside viral y encapsida estrechamente el ARN viral. La VP35 forma también parte de la nucleocápside y junto con la VP24 ejercen funciones de antagonismo del sistema de la inmunidad innata. La glicoproteína de superficie es la responsable de la adhesión del virus a los receptores celulares y de la entrada del virión en la célula. El análisis genético de la variante de EBOV de la epidemia de África Occi-

Correspondencia:
Miguel J. Martínez Yoldi.
Servicio de Microbiología, Hospital Clinic i Provincial de Barcelona
E-mail: myoldi@clinic.ub.es

dental muestra un número de mutaciones que potencialmente podrían tener un impacto en el rendimiento de ciertas pruebas diagnósticas o incluso en la eficacia de algunos tratamientos experimentales, aunque estos posibles efectos no se han demostrado experimentalmente ni descrito clínicamente.

La evidencia acumulada indica que los murciélagos representan el reservorio natural de los filovirus. El virus Marburg ha sido aislado de murciélagos de la fruta egipcios (*Rousettus aegyptiacus*). Aunque EBOV no ha sido aislado de murciélagos hasta la fecha, ARN viral y/o anticuerpos contra EBOV han sido hallados en diferentes estudios en estos animales. Otros mamíferos como primates no humanos o antílopes pueden también ser infectados. Los humanos adquieren la enfermedad por contacto estrecho con fluidos biológicos de animales o pacientes infectados. La epidemia actual por EBOV en África Occidental comenzó probablemente en diciembre de 2013 y fue originada por una única introducción del virus en la población humana desde su reservorio. Un estudio reciente sugiere que la epidemia se inició a través del contacto con murciélagos insectívoros de la familia *Molossidae* (en inglés conocidos como "free-tailed bats"), específicamente la especie *Mops condylurus*².

Desde su descubrimiento en las décadas de los 60's-70's los filovirus han causado brotes epidémicos esporádicos en África. Sin embargo, desde el año 2000, se han podido identificar estos brotes casi cada año. Desde 1976 hasta el 2012 se

estima que el Ébola ha provocado la muerte de 1590 personas, pero la epidemia en curso que afecta a varios países de África Occidental en menos de 2 años ha causado 7 veces más víctimas que todos los episodios previos juntos^{3,4} (figura 1). Los principales brotes provocados por el virus Ébola están resumidos en la tabla 1. La tasa de mortalidad varía dependiendo de la especie de virus Ébola implicada, correspondiendo las más altas tasas a las especies de virus Zaire y Sudán. Históricamente los brotes han tenido lugar en un solo país o en áreas restringidas a países limítrofes, afectando como máximo a varios cientos de personas y fueron controlados mediante medidas básicas de aislamiento de casos y vigilancia de contactos.

El periodo de incubación tiene un rango entre 2 y 21 días. Suele durar más de una semana (8-11 días) en los casos de transmisión de persona a persona, aunque puede ser más corto en pacientes infectados de forma parenteral con el uso de agujas contaminadas no esterilizadas. Los pacientes con frecuencia acuden a los servicios médicos menos de una semana después del inicio de los síntomas. La presentación clínica de la actual epidemia en el África Occidental es, en general, similar a las descritas en otras epidemias del virus Ébola. Los síntomas iniciales de la enfermedad por lo general incluyen síntomas inespecíficos como fiebre, fatiga, malestar general y mialgias. Los síntomas gastrointestinales aparecen comúnmente en pocos días e incluyen vómitos, diarrea y dolor abdominal. La respuesta inflamatoria

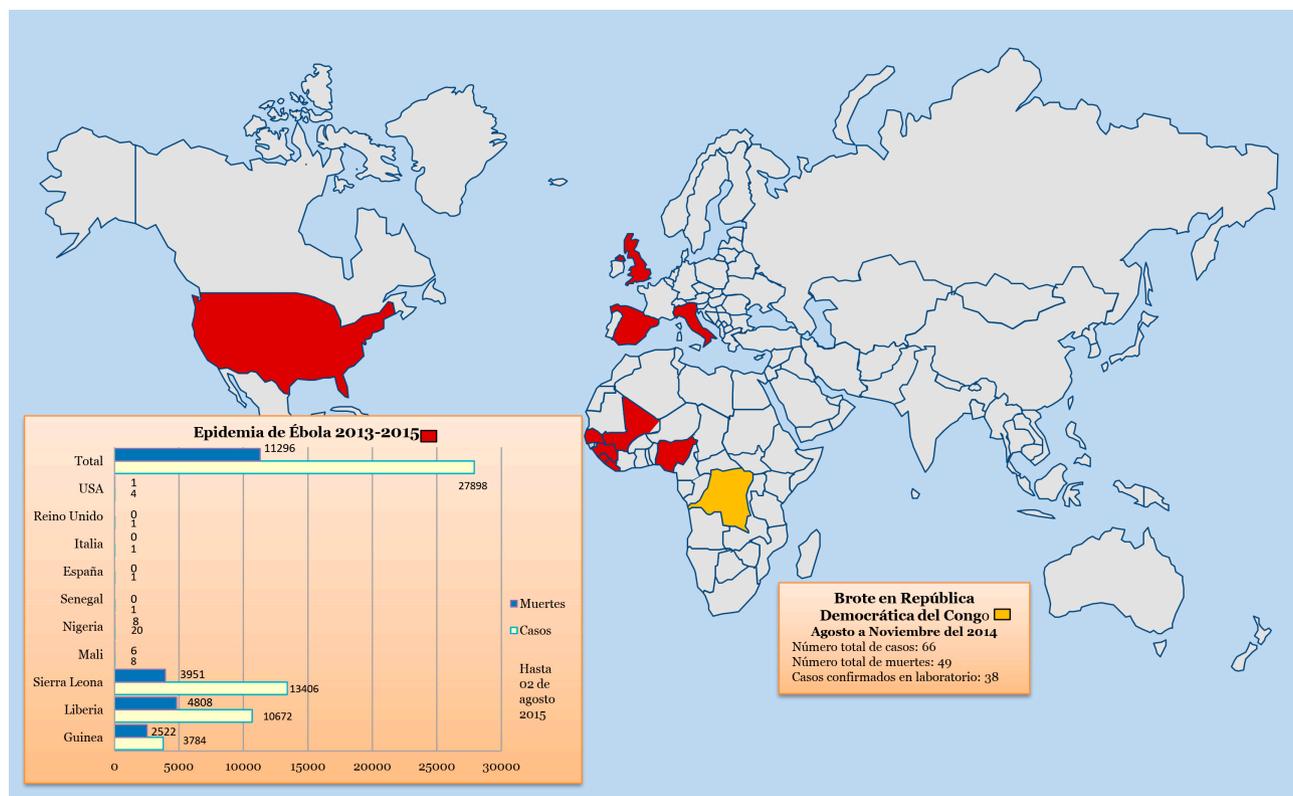


Figura 1 Países afectados y número de casos en los dos últimos brotes de Ébola.

Tabla 1		Brotos asociados a las diferentes especies de virus Ébola en el mundo			
Virus	Periodo	País	Número de casos	Mortalidad (%)	Comentario
Virus Ébola	1976	RDC (antes Zaire)	318	280 (88%)	Primer brote reportado. Ubicación: Yambuku y áreas cercanas. La enfermedad se diseminó por contacto cercano y uso de jeringas contaminadas.
	1994	Gabón	52	31 (60%)	Ubicación: Mékouka y otros campamentos mineros ubicados en la selva profunda. Se reportó inicialmente como un brote de fiebre amarilla.
	1995	RDC (antes Zaire)	315	250 (81%)	Ubicación: Kikwit y áreas cercanas. El brote fue rastreado hasta un paciente que trabajó en la selva cercana a la ciudad. Se diseminó a través de familiares y hospitales.
	1996 (Ene-Abr)	Gabón	37	21 (57%)	Ubicación: Mayibout. Cazadores se alimentaron de un chimpancé muerto, 19 personas del grupo enfermaron, hubo casos secundarios entre los familiares.
	1996-1997 (Jul-Ene)	Gabón/ Sudáfrica	62	46 (64%)	Ubicación: área de Booué. El caso índice fue un cazador que vivió en un campamento en la selva. Se diseminó por contacto con personas enfermas. Un médico viajó de Gabón a Johannesburg, Sudáfrica, después de tratar pacientes infectados; una enfermera que lo atendió se contagió y murió.
	2001-2002 (Oct-Mar)	RC/Gabón	122	96 (79%)	Ubicación: frontera entre RC y Gabón. El primer caso se reportó en RC.
	2002-2003 (Dic-Abr)	RC	143	128 (89%)	Ubicación: distritos de Mbomo y Kélé. Departamento de Cuvette Ouest.
	2003 (Nov-Dic)	RC	35	29 (83%)	Ubicación: pueblos de Mbomo y Mbandza del distrito de Mbomo, Departamento de Cuvette Ouest.
	2007 (Abr-Oct)	RDC	264	187 (71%)	Ubicación: provincia de Kasai Occidental.
	2008-2009 (Dic-Feb)	RDC	32	15 (47%)	Ubicación: áreas de Mweka y Luebo, provincia de Kasai Occidental.
2013 (Dic-En curso)	Varios países	27.898**	11.296 (41%)***	El brote comenzó en África Occidental y se extendió a 10 países en 3 continentes.	
2014 (Ago-Nov)	RDC	66	49 (74%)	Ubicación: múltiples pueblos de RDC. No está relacionado con el brote en África Occidental.	
Virus Sudán	1976	Sudán (Sudán del Sur)	284	151 (53%)	Ubicación: Nzara, Maridi y áreas cercanas. Se diseminó principalmente a través del contacto personal cercano dentro de hospitales, afectando a personal sanitario.
	1979	Sudán (Sudán del Sur)	34	22 (65%)	Ubicación: Nzara y Maridi. Afectó las mismas localidades que en 1976.
	2000-2001 (Ago-Ene)	Uganda	425	224 (53%)	Ubicación: en los distritos de Gulu, Masindi y Mbarara.
	2004 (Abr-Jun)	Sudán (Sudán del Sur)	17	7 (41%)	Ubicación: pueblo de Yambio. Varios casos sospechosos de Ébola fueron posteriormente reclasificados como casos de sarampión.
	2012 (Jun-Oct)	Uganda	11*	4 (36.4%)	Ubicación: distrito de Kibaale.
	2012-2013 (Nov -Ene)	Uganda	6*	3 (50%)	Ubicación: distrito de Luwero.
Virus Bundibugyo	2007-2008 (Dic-Ene)	Uganda	149	37 (25%)	Ubicación: distrito de Bundibugyo, Uganda. Fue el primer brote de esta nueva especie.
	2012 (Jun-Nov)	RDC	36*	13 (36.1%)	Ubicación: Province Orientale de la RDC. No tuvo relación epidemiológica con un brote simultáneo en el distrito de Kibaale, Uganda.

RDC: República Democrática del Congo, RC: República del Congo. Se excluyeron casos aislados (RDC 1977 y Uganda 2011) y accidentes de laboratorio con virus Ebola, virus Tai Forest y virus Reston.

*Sólo casos confirmados por laboratorio.

**Casos probables y confirmados reportados hasta el 02 de agosto del 2015 por la OMS.

***Tasa de mortalidad global correspondiente a este brote, puede variar dependiendo del país afectado y de la serie.

Tabla adaptada de los CDC (Centers for Disease Control and Prevention, <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/outbreaks/history/chronology.html>, revisada el 31/07/2015).

sistémica debido a la liberación de citoquinas y otros mediadores pro-inflamatorios contribuyen al incremento de la permeabilidad vascular y a las alteraciones de la coagulación. En los casos severos se llega a una situación de shock y fallo multiorgánico. La patogénesis de la enfermedad no está del todo comprendida pero los modelos animales indican alteraciones inflamatorias similares a las que ocurren durante el shock séptico⁵. Por otro lado, la pérdida masiva de fluido debido a intensos vómitos y diarreas profusas puede llevar a un estado de deshidratación y shock hipovolémico determinante en la gravedad de la infección. En los casos fatales, la muerte suele ocurrir entre la primera y segunda semana de la enfermedad. En la epidemia actual, la mortalidad es significativamente superior en los pacientes mayores de 30 años que en los de menor edad⁶.

El diagnóstico de los casos sospechosos es confirmado por pruebas de laboratorio específicas. La mayoría de casos son diagnosticados mediante detección de material genético del virus en muestras clínicas (normalmente sangre) usando una transcripción reversa con reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) a tiempo real. Existen también métodos de detección

de antígeno pero son mucho menos frecuentemente utilizados. La detección de anticuerpos contra el virus Ébola también es posible, pero su uso está limitado al diagnóstico de pacientes convalecientes o para estudios sero-epidemiológicos, debido a que en algunos casos fatales la enfermedad progresa muy rápidamente y no llegan a desarrollar anticuerpos contra el virus⁷. Durante los tres primeros días tras inicio de la enfermedad, es posible que la viremia no sea elevada y por tanto no sea detectable por los ensayos moleculares. Por ello durante esta fase inicial es necesario repetir la prueba en una nueva muestra obtenida días después antes de considerar a un paciente como no infectado. Durante la fase aguda de la enfermedad el virus puede ser detectado en una variedad de fluidos biológicos incluidos la leche materna, semen, saliva, heces y lágrimas. Desde que el virus deja de detectarse en la sangre, éste puede estar presente durante largos periodos en otros fluidos biológicos. EBOV ha sido aislado de muestras de orina el día 26 de la enfermedad, nueve días después de aclararse la viremia. El virus también puede ser aislado en el fluido seminal de supervivientes hasta el día 82 después de la infección. La detección

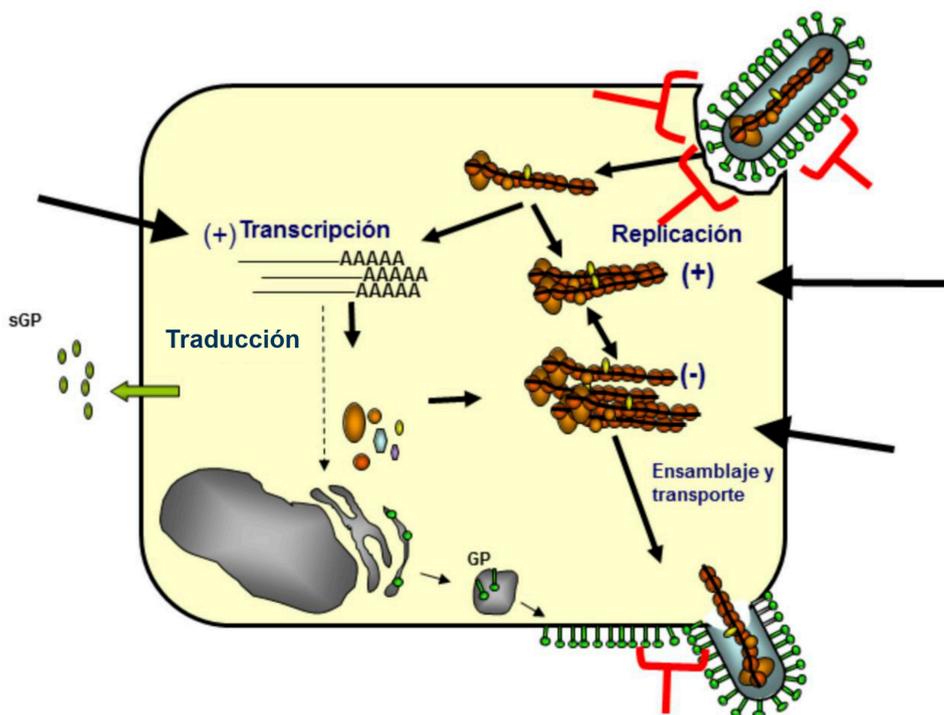


Figura 2 | Ciclo replicativo simplificado del virus Ébola y modo de acción de algunos fármacos experimentales

Tras la entrada del virus en la célula via un receptor o receptores no del todo aclarados, EBOV libera la nucleocápside viral, la cual inicia los procesos de transcripción y replicación virales. La síntesis de las proteínas va seguida del ensamblaje de nuevos viriones y su liberación a través de la membrana celular. Los anticuerpos monoclonales que contiene el fármaco Zmapp (símbolos rojos) van dirigidos contra la glicoproteína de superficie, y se unen a ella bloqueando la entrada del virus en la célula, además de probablemente reconocer las células infectadas. La terapia experimental TKM-Ebola consiste en ARNs pequeños interferentes que activan la destrucción de ARN mensajeros de las siguientes proteínas virales: VP24, VP35 y L polimerasa, afectando por tanto a distintos niveles del ciclo viral (flechas negras). Las proteínas diana son esenciales para la replicación y transcripción virales (VP35 y L), la formación de nucleocápsides (VP35 y VP24) así como para la inhibición del sistema inmune (VP35 y VP24).

de EBOV en diversos fluidos es consistente, pero su papel en la transmisión de la enfermedad no está bien establecido, considerándose que la mayoría de contagios ocurren a través de contacto con sangre, vómitos y heces de pacientes infectados.

Hasta el momento (Julio 2015) no se disponen de tratamientos antivirales específicos ni vacunas comercializadas para combatir EBOV. Los desarrollos terapéuticos iniciales fueron encaminados al control de la respuesta inflamatoria y de las alteraciones de la coagulación, si bien actualmente la gran mayoría de terapias experimentales se dirigen al bloqueo o interferencia del ciclo biológico del virus. En la figura 2 se representa de forma esquemática el ciclo replicativo de EBOV y se señalan las etapas en las que actúan algunos de los tratamientos en desarrollo más avanzado. Algunos de estos candidatos terapéuticos ya se han probado en pacientes pero todavía no se disponen de datos suficientes sobre su eficacia. El ZMapp es un cóctel de tres anticuerpos monoclonales humanizados producidos en plantas de tabaco que tiene como diana la glicoproteína de superficie del virus Ébola. Los resultados en modelos animales han mostrado una protección eficaz en macacos infectados cuando se administró hasta cinco días después de infección. Otro fármaco, el TKM-Ebola, consiste en una combinación de ARNs pequeños interferentes dirigidos contra tres proteínas virales: la VP35, la VP24 y la polimerasa L y ha mostrado ser eficaz también en modelos animales.

La investigación en vacunas contra Ébola ha incluido el desarrollo de vacunas inactivadas, vacunas ADN y vacunas basadas en virus like particles (partículas no replicativas que simulan filovirus). Actualmente las vacunas basadas en vectores virales son las más avanzadas, han demostrado proteger de forma duradera a macacos, ser inmunogénicas y seguras y están siendo evaluadas en humanos. Los dos principales candidatos están basados en adenovirus del chimpancé y en el virus de la estomatitis vesicular (VSV)^{8,9}. Ambas incluyen la expresión de la GP de EBOV para inducir una respuesta específica contra esta proteína que bloquee la infección ante la exposición al virus. La vacuna basada en adenovirus es una vacuna no replicativa que codifica para la GP de EBOV. Se utiliza un adenovirus de chimpancé para evitar usar un adenovirus humano contra el cual muchas personas tienen ya anticuerpos que podrían bloquear la propia vacuna. Esta vacuna ha demostrado inducir una protección duradera (10 meses) en animales cuando se utiliza combinada con otra dosis de recuerdo basada en un vector de virus vaccinia modificado. La vacuna basada en el VSV es una vacuna viva atenuada que utiliza este virus modificado genéticamente para expresar en su superficie la GP de EBOV. Además de su eficacia como vacuna preventiva, ha demostrado ser eficaz cuando se utiliza como profilaxis postexposición inmediata en animales infectados. Esta vacuna ha sido ya probada en Guinea Conakry en personas en contacto con casos confirmados de Ébola y los primeros resultados indican una protección eficaz¹⁰. Si bien se considera que ante una epidemia un tratamiento efectivo es de elección, el disponer de una vacuna eficaz beneficiaría claramente a algunos de los grupos más vulnerables, como los trabajadores sanitarios de un país donde ocurre un brote.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kuhn JH, Bao Y, Bavari S, Becker S, Bradfute S, Brister JR, et al. Virus nomenclature below the species level: a standardized nomenclature for natural variants of viruses assigned to the family Filoviridae. *Arch Virol* 2013; 158:301-11.
2. Saez AM, Weiss S, Nowak K, Lapeyre V, Zimmermann F, Düx A, et al. Investigating the zoonotic origin of the West African Ebola epidemic. *EMBO Mol Med* 2014; 7:17-23.
3. Baize S, Pannetier D, Oestereich L, Rieger T, Koivogui L, Magassouba N, et al. Emergence of Zaire Ebola Virus Disease in Guinea - Preliminary Report. *N Engl J Med* 2014; 371:1418-25.
4. Meltzer MI, Atkins CY, Santibanez S, Knust B, Petersen BW, Ervin ED, et al. Estimating the future number of cases in the Ebola epidemic--Liberia and Sierra Leone, 2014-2015. *MMWR Surveill Summ* 2014; 63 Suppl 3:1-14.
5. Mahanty S, Bray M. Pathogenesis of filoviral haemorrhagic fevers. *Lancet Infect Dis* 2004; 4:487-98.
6. Qin E, Bi J, Zhao M. Clinical features of patients with Ebola Virus Disease in Sierra Leone. *Clin Infect Dis* 2015; published online: May 20. DOI: 10.1093/cid/civ319.
7. Rowe AK, Bertolli J, Khan AS, Mukunu R, Muyembe-Tamfum JJ, Bressler D, et al. Clinical, virologic, and immunologic follow-up of convalescent Ebola hemorrhagic fever patients and their household contacts, Kikwit, Democratic Republic of the Congo. *Commission de Lutte contre les Epidémies à Kikwit. J Infect Dis* 1999; 179 Suppl :S28-35.
8. Rampling T, Ewer K, Bowyer G, Wright D, Imoukhuede EB, Payne R et al. A Monovalent Chimpanzee Adenovirus Ebola Vaccine - Preliminary Report. *N Engl J Med* 2015; Jan 28.
9. Regules JA, Beigel JH, Paolino KM, Voell J, Castellano AR, Muñoz P, et al. A Recombinant Vesicular Stomatitis Virus Ebola Vaccine - Preliminary Report. *N Engl J Med* 2015; Apr 1.
10. Henao-Restrepo, AM, Longini M, Egger M, Dean NE, Edmunds WJ, Camacho A, 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; 386:857-66.