

Artículo de Revisión

Enfermedad por el Virus del Ébola

Julio Huchín Cetz¹, Roberto Cedillo Rivera²

¹ Laboratorio de Diagnóstico Molecular de Influenza, Unidad Médica de Alta Especialidad, Mérida, Instituto Mexicano del Seguro Social.

² Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Yucatán

RESUMEN

El virus del Ébola (EBOV) es el agente causal de la denominada Enfermedad por el Virus del Ébola (EVE) cuya manifestación más importante es la fiebre hemorrágica grave en humanos y constituye una amenaza a la salud pública en África y el resto del mundo a través de infecciones importadas y el riesgo de ser usado con fines de terrorismo biológico. La epidemia de la enfermedad por el virus del Ébola del 2014 es la más grande de la historia en el Oeste de África. Las infecciones por el virus del Ébola se caracterizan por supresión inmune, una respuesta inflamatoria generalizada que causa coagulopatía y daños al sistema inmunitario, conduciendo a una falla multiorgánica y a choque similar a un choque séptico fulminante. La tasa de mortalidad por la EVE puede ser hasta del 90%. A pesar del esfuerzo realizado en tratamientos experimentales y el desarrollo de vacunas, actualmente no existe un tratamiento inmunológico ni farmacológico eficaz para esta enfermedad, limitándose solamente a tratamiento de soporte y medidas de control epidemiológico. En este artículo, se hace una revisión de trabajos publicados acerca de la etiología, mecanismo de entrada, patogenia, transmisión, diagnóstico y de los avances recientes en la búsqueda de vacuna adecuada, así como de un tratamiento farmacológico para la EVE.

Palabras clave: Enfermedad por el virus del Ébola, revisión, epidemiología, diagnóstico, tratamiento, prevención

ABSTRACT

Ebola viruses are the causative agents of the Ebola virus disease (EVD), being the Hemorrhagic Fever the most severe manifestation of the disease. EVD is a threat for public health in Africa and worldwide by the risk of bioterrorism. The outbreak of EVD of 2014 is the most important in the past of West Africa. EVD is characterized by immune suppression, hemorrhagic manifestations and damage to the immune system that induce to multiorgan impairment and shock similar to fulminant septic shock. The mortality caused by EVD is as high as 90%. There is neither an appropriate treatment nor an efficient vaccine. The current treatment is focused to manage the alteration of coagulation, the damage to different organs and shock by means of supportive measures. In this article, we reviewed several papers regarding to some aspects of EVD, including etiology, pathogenesis, epidemiology, diagnosis, treatment and prevention.

Key words: Ebola virus disease, review, epidemiology, diagnosis, treatment, prevention.

Autor de correspondencia: Dr. Roberto Cedillo Rivera. Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Yucatán. Av. Itzáes 498 Centro, Mérida, Yucatán. México. Correo electrónico: rcedillor@yahoo.com

Fecha de recepción: 4 de diciembre de 2014

Fecha de aceptación: 15 de diciembre de 2014

Introducción.

El 25 de marzo de 2014 el Centro para el Control y Prevención de enfermedades de Estados Unidos (CDC por sus siglas en inglés) emitió un comunicado sobre un nuevo brote epidémico de la enfermedad por el virus del Ébola (EVE), el cual comenzó en diciembre de 2013 en la República de Guinea, inicialmente en el poblado de Meliandou de la provincia de Guéckédou de la región este de Guinea, el caso índice fue un niño de dos años que falleció en diciembre de 2013, luego se extendió a la provincia de Macenta. Localizada en la costa atlántica del oeste de África, Guinea fue el primer país en reportar un brote de EVE con más de un caso. La aparición de casos en la capital de Guinea, Conakry, representaron las primeras formas de transmisión en un asentamiento urbano. Luego se extendió a Monrovia, la capital de Liberia, y al país vecino de Sierra Leona. Nigeria llegó a ser el cuarto país involucrado en el brote cuando Samuel Patrick, un ciudadano liberiano-estadounidense infectado con el virus del Ébola voló hacia Lagos el 20 de julio. En consecuencia ocho personas que estuvieron en contacto con él se infectaron, incluyendo el médico y la enfermera que lo trataron, la enfermera falleció. De igual forma, dos ciudadanos estadounidenses se infectaron, un médico y una enfermera y fueron trasladados a Estado Unidos para recibir un tratamiento experimental, el ZMapp (1-3).

El actual brote de la EVE, el más grande de la historia moderna, se asocia con una nueva cepa del virus del Ébola de la especie Zaire (EBOV por sus siglas en inglés), el más mortal de las 5 especies del virus del Ébola, con tasas de mortalidad que llegan a ser hasta del 90%. De acuerdo a la CDC, al 16 de noviembre de 2014 (la información más reciente disponible en este artículo), se han reportado 15,145 casos totales, de los cuales 9,427 casos se confirmaron por laboratorio en 8 países (Guinea, Liberia, Sierra Leona, Mali, Nigeria, Senegal, Estados Unidos y España) y 5,420 muertes lo que nos da un porcentaje de letalidad de 35.8%, tomando en cuenta los casos totales. Sin embargo, la OMS

indica que los números reportados son un estimativo debido a que existen muchas muertes sin reportar y casos no diagnosticados en comunidades alejadas de los centros de salud (4).

El 8 de agosto de 2014, la OMS declaró un estado de emergencia de salud pública de importancia internacional. Debido al actual brote, la ONU requiere de 1,000 millones de dólares para poder contener los casos de infección y estima que cerca de 20,000 personas puedan infectarse en los próximos meses. El 16 de septiembre de 2014, Estados Unidos envió un apoyo de 500 millones de dólares y autorizó el desplazamiento de 3,000 militares a la región de África en un esfuerzo para poder controlar la enfermedad (5).

Etiología.

El virus del Ébola (EBOV) es el agente causal de la Enfermedad por el Virus del Ébola (EVE) cuya manifestación más grave es la fiebre hemorrágica grave. Es un virus de RNA de sentido negativo, monocatenario con envoltura, perteneciente al género *Ebolavirus* de la familia *Filoviridae* (orden Mononegavirales). Los filovirus son partículas que tienen un diámetro uniforme de 80 nm pero pueden alcanzar longitudes arriba de los 14,000 nm, de morfología variada (pleomórficos). Otro género en esta familia es el *Marburgvirus*, que incluye a virus que causan una enfermedad similar a la enfermedad por EBOV. El tercer género de esta familia es el *Cuevavirus*, que tiene como hospedero a los murciélagos. La familia *Filoviridae* comparte muchas características con las familias *Paramyxoviridae* y *Rhabdoviridae*, todas conforman el orden Mononegavirales (6). El genoma del EBOV es de aproximadamente 19 kb y consiste de siete genes: nucleoproteína (NP), proteína de virión (VP) 35, VP40, glucoproteína (GP), VP30, VP24, RNA polimerasa dependiente de RNA (L). Cuatro de las proteínas forman el complejo de la ribonucleoproteína: VP30, VP35, NP y L (7). Con la excepción del gen GP, todos los genes son monocistrónicos, codificando solamente una

proteína estructural. El VP35 es un antagonista del interferón, VP40 funciona como una proteína matriz y media la formación de las partículas virales, VP24 interfiere en la señalización del interferón. La GP es la única proteína de superficie transmembrana del virus y forma espículas triméricas. Una diferencia importante del virus del Ébola con otros Mononegavirales es la producción de una glucoproteína soluble (sGP), la cual es el producto primario del gen GP y es secretado en grandes cantidades desde células infectadas. Debido a que sGP comparte un 90% de su secuencia con el extremo N-terminal de GP trimérico, se piensa que sGP funciona como una presa de los anticuerpos anti-GP circulantes en la persona infectada. Este sería un mecanismo de evasión usado por el EBOV (8-10).

El género EBOV contiene cinco especies: EBOV Sudán (SEBOV), EBOV Zaire (ZEBOV), EBOV Reston (REBOV), EBOV Costa de Marfil (CMEBOV), actualmente denominado Tai Forest y EBOV Bundibugyo (BEBOV). Estas especies varían en su virulencia, siendo el ZEBOV el más virulento (con una tasa de mortalidad que puede llegar al 90%), seguido de SEBOV y BEBOV, con una mortalidad arriba del 50%. El CMEBOV se le ha asociado solamente en un caso de infección en humano y hasta el momento no se le ha asociado en un brote epidémico en humanos (11). El REBOV es letal en primates no humanos (PNH). Actualmente los macacos Rhesus y *Cynomolgus*, son el estándar de oro en modelo animal para el estudio de la patogenicidad, vacunas y pruebas terapéuticas de EBOV, pues desarrollan fiebre hemorrágica con una letalidad de 100%. En modelos roedores como ratones, cobayos y hámsters, también se desarrolla la enfermedad pero no se producen todos los síntomas de la enfermedad (12).

Epidemiología.

El primer brote de fiebre hemorrágica por filovirus ocurrió durante dos brotes simultáneos en Marburgo y Frankfurt, Alemania, y más tarde en Belgrado, Yugoslavia en el año de 1967. Al

agente responsable del brote se le llamó Marburgo virus (MARV) por la población alemana donde se observó inicialmente. Este nuevo virus emergente sería clasificado más tarde como el primer miembro de la familia *Filoviridae* (13,14). Desde 1967 se han producido brotes de MARV en Sudáfrica, Kenya, República Democrática del Congo, Uganda y Angola (15). A diferencia del género *Ebolavirus*, el género *Marburgvirus* solamente tiene una especie MARV Lago Victoria (LVMARV). En 1976, se describieron casos similares de fiebre hemorrágica en dos brotes simultáneos, primero en el sureste de Sudán y posteriormente en el noreste de la antigua Zaire hoy República Democrática del Congo (RDC). Se aisló el agente causal desconocido de ambos brotes y posteriormente se le llamó virus del Ébola (EBOV) en relación al río Ébola localizado al noroeste de la RDC. Estos dos brotes epidémicos fueron causados por dos especies distintas de EBOV, el SEBOV y ZEBOV. Sin embargo, este hecho fue descubierto años más tarde (16,17). El REBOV fue descrito en 1989 y aislado de monos *Cynomolgus* (*Macaca fascicularis*) puestos en cuarentena en Reston, Virginia, USA. Estos monos se importaron de Filipinas y se observó una alta tasa de mortalidad. La fiebre hemorrágica solamente se manifestó en estos animales. Posteriormente, el REBOV se ha presentado en Filipinas en varias ocasiones con reportes documentados de infección en cerdos (18,19). El CMEBOV (actualmente denominado Tai Forest) fue descubierto en 1994. El virus se aisló de una etnóloga que había trabajado en la reserva Tai Forest en Costa de Marfil, infectándose al momento de hacerle una necropsia a un chimpancé. Sin embargo, la etnóloga sobrevivió a la infección y no se infectaron otras personas (20). La última especie de EBOV descubierto fue el BEBOV reportado en África ecuatorial en el 2007, en el poblado de Bundibugyo, Uganda (21).

La tasa de mortalidad en la enfermedad por EBOV es muy alta, acercándose a un 90% en algunos brotes. Por lo antes expuesto los

filovirus han sido clasificados por la CDC en la categoría A como potenciales agentes de bioterrorismo. De igual forma, para su manejo en laboratorio con fines de diagnóstico o de investigación se requiere de un nivel de bioseguridad 4 (el más alto nivel de bioseguridad). Todos los fluidos corporales son infecciosos, de ahí que se requiera del uso de un traje protector de cuerpo completo para el personal médico y de vigilancia. El control epidemiológico también se hace difícil debido al variable periodo de incubación que puede ser tan corto como 2 días o tan prolongado como 21 días, aunado al prolongado periodo de positividad al EBOV en pacientes que se han recuperado de la enfermedad (21-23).

Los pacientes inicialmente presentan fiebre, cefalea, dolor muscular y abdominal, acompañado por diarrea y vómito. En la primera fase, la EVE se confunde con otras enfermedades tropicales, como malaria o dengue, hasta la aparición de la fase hemorrágica, presentándose el característico sangrado interno y subcutáneo, hematemesis y hemorragia conjuntival. La excesiva pérdida de sangre conduce a falla renal, dificultad respiratoria, hipotermia, choque hipovolémico y muerte (24). La “tormenta de citocinas” y la supresión de los linfocitos CD4 y CD8 son mecanismos que inducen el evento fatal de la EVE (25). El tratamiento actual para la enfermedad por EBOV es de sostén. Sin embargo, se están desarrollando varios fármacos entre ellos un compuesto antiviral llamada favipiravir que ha demostrado algunos resultados prometedores en ratones infectados experimentalmente (26) y el desarrollo de vacunas eficaces ya está en fases iniciales de ensayos clínicos (27).

Reservorios.

En la búsqueda de reservorios de EBOV en África Central se han realizado estudios en artrópodos, roedores, plantas africanas y otros mamíferos (28-31). La primera evidencia de la presencia de EBOV Zaire en murciélagos frugívoros se documentó a través de la

detección de RNA viral y anticuerpos en tres especies de murciélagos: *Hypsignathus monstrosus* (murciélago frugívoro con cabeza de martillo), *Epomops franqueti* (murciélago frugívoro cantante) y *Myonycteris torquata* (murciélago frugívoro de cuello corto) (32,33). La identificación y aislamiento exitoso del virus de Marburgo en el murciélago frugívoro *Rousettus aegyptiacus* en Gabón África, apoyó la idea de que los murciélagos son un reservorio para las especies de filovirus (34). Sin embargo, hasta el momento no se ha reportado la identificación de otras especies de EBOV en los murciélagos y sigue la búsqueda de la existencia de otros reservorios, especialmente después del descubrimiento del EBOV Reston en cerdos de Filipinas.

Transmisión.

En la mayoría de los brotes de fiebre hemorrágica por EBOV, el virus se introduce a las poblaciones humanas a través del manejo de cadáveres de animales infectados o cuando las personas tienen contacto con tejidos o fluidos de animales infectados, especialmente con primates no humanos (PNH) infectados, seguido por una transmisión persona a persona desde un caso índice a los miembros de una familia o los trabajadores de la salud en un hospital (35). La perturbación de los ecosistemas debido a la excesiva deforestación y a las actividades humanas en la profundidad de los bosques podría haber provocado directa o indirectamente el contacto entre los humanos y el reservorio natural del virus. La infección por EBOV se le ha relacionado con las actividades económicas humanas como la caza, la agricultura y la extracción de oro. En algunos casos, los brotes pueden estar relacionados con la caza de murciélagos con fines culinarios. Es muy raro que las actividades científicas resulten en una infección primaria por EBOV. Estos ejemplos, muestran claramente que ciertas actividades económicas, de las cuales depende para su sobrevivencia una población, son los factores de riesgo para una infección por EBOV (36).

La mayoría de los brotes de fiebre hemorrágica por EBOV inician con un caso índice que después se transmite a personas secundarias a través del contacto íntimo con sangre, secreciones corporales, excreciones, tejidos o semen. En las enfermedades nosocomiales es frecuente la transmisión por el uso de jeringas no estériles. Las personas que visitan a las personas infectadas en sus hogares o los trabajadores de la salud en los hospitales, también están potencialmente expuestos a una infección por EBOV (36,37).

En comunidades marginadas de África, se han reportado infecciones a través de ritos funerarios, que involucran la limpieza del cadáver y la eliminación de pelo y uñas de los dedos antes del entierro (36,37).

Hasta la fecha no se ha reportado la transmisión de EBOV en humanos a través de aerosoles. Sin embargo, en PNH se ha reportado esta forma de transmisión con el desarrollo de la enfermedad (38). Se ha reportado la presencia del antígeno viral de EBOV en el fluido seminal 3 meses después del inicio de los síntomas lo que sugiere la transmisión sexual de EBOV en humanos (39). Generalmente la transmisión del EBOV entre humanos se da en la fase sintomática de la enfermedad.

Mecanismo de entrada.

El EBOV entra al hospedero a través de superficies mucosas, heridas y abrasiones en la piel, o por introducción parenteral. La mayoría de las infecciones humanas en los brotes parece ocurrir por el contacto directo con pacientes infectados o cadáveres (40).

Las células presentadoras de antígeno, como los macrófagos y las células dendríticas (CDs) localizados en el sitio de la infección, son los blancos primarios de la replicación de EBOV. El EBOV entra a la CD inmadura a través de una lectina tipo-C (DC-SIGN) y de otros receptores de reconocimiento patrón. Posteriormente, estas CDs son desreguladas y son incapaces de expresar las moléculas co-estimuladoras para estimular a los linfocitos T (41,42). Para el reconocimiento de EBOV, también se han

reportado a receptores TREM de macrófagos y neutrófilos, receptor asialoglucoproteína de hepatocitos y TLR4 de macrófagos (43). En cuanto a su mecanismo de endocitosis, se ha reportado que EBOV entra e infecta a las células independientemente de clatrina, caveolina o dinamina. En vez de ello, para la entrada de EBOV se requiere de moléculas de colesterol en la membrana. El mecanismo primario para la ingestión del virus se debe a un proceso de macropinocitosis y luego de la internalización el EBOV es transportado en endosomas tempranos y tardíos (44). De igual forma, se ha reportado que la proteína Niemann-Pick C1 (NPC1), un transportador de colesterol lisosomal, es un receptor intracelular esencial para EBOV pues promueve la entrada viral en el último paso al unirse a la GP de EBOV dentro de la ruta endosomal/lisosomal (45).

Células blanco y tejidos.

El EBOV tiene un amplio tropismo celular, El análisis de hibridación *in situ* y microscopía electrónica de tejidos de pacientes o de PNH infectados experimentalmente, demuestran que en los monocitos, macrófagos, células dendríticas, células endoteliales, fibroblastos, hepatocitos, células corticales adrenales y varios tipos de células epiteliales, se lleva a cabo la replicación del virus. Estudios experimentales en PNH infectados con ZEBOV, sugieren que los monocitos, macrófagos y células dendríticas son los sitios tempranos y preferidos para la replicación del EBOV. Estas células desempeñan un papel importante en la diseminación del virus desde el sitio inicial de infección hasta los nódulos linfáticos, probablemente a través del sistema linfático y hacia el hígado y bazo a través de la sangre. Luego, los monocitos, macrófagos y células dendríticas infectados migran fuera del bazo y de los nódulos linfáticos hacia otros tejidos, produciendo la diseminación de la infección (46-48).

Inicialmente se pensó que la glucoproteína del virus es el determinante primario del daño celular vascular y que la infección de las células endoteliales por el EBOV induce un daño

estructural, el cual contribuye a la diátesis hemorrágica. Sin embargo, el análisis histológico de necropsias realizados en los primeros brotes no identificaron lesiones vasculares y hasta el momento ninguna lesión vascular ha sido reportado en los últimos brotes. De igual forma, tampoco existe evidencia de daño vascular en PNH infectados con EBOV (49-50).

Se piensa que los tejidos linfoides ricos en macrófagos, el hígado y la glándula adrenal parecen ser los blancos principales de los filovirus y este tropismo probablemente tiene un papel igualmente importante en la patogénesis de la enfermedad. Se han reportado varios grados de necrosis hepatocelular en PNH y humanos infectados. En consecuencia, las hemorragias podrían estar relacionadas a la disminución de la síntesis de proteínas plasmáticas que participan en la coagulación debido a la gravedad de la necrosis hepatocelular. Por otra parte, la corteza adrenal juega un papel importante en la homeostasis de la presión sanguínea. Al impedir la secreción de las enzimas que sintetizan los esteroides, se produce una hipotensión y pérdida de sodio, con la consiguiente hipovolemia (47).

Aunque los tejidos linfoides son los sitios primarios de la infección por EBOV, se observa poca respuesta celular inflamatoria en estos tejidos y a pesar de que hay una enorme muerte y pérdida de linfocitos durante la infección, los linfocitos mismos no se infectan. Un gran número de linfocitos T y células NK mueren por apoptosis, lo cual explica la progresiva linfopenia (47, 51-52). Se desconoce el mecanismo por el cual se produce la apoptosis y pérdida de linfocitos durante el curso de la infección por el EBOV pero se piensa que es provocado por diferentes agonistas o rutas. Estas rutas podrían incluir el ligando inductor de apoptosis relacionado con TNF (TRAIL) y las rutas del receptor de muerte celular Fas, la producción anormal de mediadores solubles como el óxido nítrico que tiene propiedades proapoptóticas o posiblemente por la interacción directa de los linfocitos con el EBOV (53-55).

Manifestaciones clínicas.

El comienzo de la enfermedad es abrupto después de un periodo de incubación de 2 a 21 días. Las características clínicas pueden dividirse en cuatro principales fases: Fase A. Síndrome tipo influenza: el comienzo es abrupto con síntomas inespecíficos o signos como fiebre alta, dolor de cabeza, artralgia, mialgia, dolor de garganta y malestar con náuseas. Fase B. Aguda (día 1-6): persiste la fiebre y síntomas generales, se agreg, fatiga intensa seguido por diarrea y dolor abdominal, anorexia y vómito. Fase C. Seudo-remisión (día 7-8): durante esta fase, el paciente se siente mejor. Algunos pacientes podrían recuperarse en esta fase y sobrevivir a la enfermedad. Fase D. Agravamiento (día 9): en la mayoría de los casos, el estado de la salud empeora con la aparición de insuficiencia respiratoria con disnea, dolor de garganta y de pecho, hipo y tos; signos de diátesis hemorrágica con diarrea sanguinolenta, hematemesis, sangrado gingival, hemorragia nasal, sangrado en sitios de venopunción, petequias y púrpura. Aparecen manifestaciones neuro-psiquiátricas como postración, delirio, confusión y coma. Finalmente insuficiencia cardio-vascular, choque hipovolémico y muerte (56).

Con todas estas manifestaciones clínicas, la fiebre hemorrágica por EBOV podría confundirse desde el inicio de la enfermedad con otras enfermedades tropicales como influenza, malaria, fiebre tifoidea, hepatitis fulminante, salmonelosis no tifoidea, fiebre por dengue, fiebre amarilla, fiebre Lassa, Marburgo y otras enfermedades hemorrágicas (42,56).

Patogénesis.

La infección por EBOV de humanos y PNH se caracteriza por una marcada linfopenia, degeneración grave de los tejidos linfoides y defectos del sistema de coagulación. Se observa necrosis de hígado, bazo, riñón, nódulos linfáticos, testículos y ovarios debido a la replicación viral dentro de las células del parénquima (25,51,57). La infección *in vitro* de

las células dendríticas con EBOV inhibe la expresión de moléculas co-estimuladoras, tales como B7-1 y B7-2. El resultado es la incapacidad de estas células infectadas de estimular de forma efectiva a los linfocitos T. Además, esta subversión de las células dendríticas podría contribuir a la apoptosis de linfocitos a través de la carencia de moléculas estimuladoras (47,52). La deposición de fibrina es frecuente durante la infección por EBOV en PNH. Además, el consumo de los factores de coagulación, el incremento en los tiempos de coagulación, así como el incremento de los productos de la degradación de fibrina, son frecuentes en la infección por EBOV en PNH (58). Las anomalías de la coagulación no son el resultado directo del daño al endotelio sino es debido a una combinación de factores tal como la sobreexpresión del factor tisular (FT) y las citocinas proinflamatorias en conjunto con la disminución sustancial de la proteína C (50,59). A la fecha se han reportado más de 150 mediadores de inflamación, especies reactivas de oxígeno y proteínas pro-coagulantes asociados con la infección por EBOV. Entre éstos, la infección por EBOV produce la expresión de varios mediadores de la inflamación como interleucinas 2, 6, 8 y 10, proteína 10 inducible de interferón, proteína 1 quimiotáctica de monocitos, TNF α y especies reactivas de oxígeno y nitrógeno. VP35 de EBOV funciona como un antagonista del interferón de tipo I posiblemente evitando la transcripción de interferón α . VP24 de EBOV interfiere con la señalización de interferón de tipo I (60-62). La producción anormal de óxido nítrico se ha asociado con varias alteraciones incluyendo apoptosis de los linfocitos, daño tisular y pérdida de la integridad vascular. Además, el óxido nítrico es un importante mediador de la hipotensión (63,64).

La trombocitopenia, el consumo de los factores de coagulación y el incremento de los productos de la degradación de la fibrina son otros indicadores de la coagulopatía que caracteriza a la infección por el EBOV (50, 64).

Hay evidencia de coagulación intravascular

diseminada durante la infección por EBOV en PNH. La expresión o liberación de factores tisulares desde los monocitos y macrófagos infectados por EBOV son los factores clave que inducen el desarrollo de las anomalías de la coagulación. La liberación de las citocinas proinflamatorias, quimiocinas, y otros mediadores desde las células presentadoras de antígeno y quizás de otras células, causan el deterioro vascular y del sistema de coagulación, que conduce a una falla multiorgánica y a un síndrome que similar a un choque séptico (50, 64).

Diagnóstico.

Es importante señalar que el manejo en laboratorio de muestras sospechosas de EBOV con fines de diagnóstico, se requiere de un alto de bioseguridad. Por esa razón, el diagnóstico por laboratorio del EBOV, generalmente se hace en centros de referencia nacional e internacional, el cual es contactado ante la sospecha de un caso. El diagnóstico por laboratorio se lleva a cabo de dos maneras: mediante la medición de la respuesta inmune a la infección y la detección de partículas virales en personas infectadas. El RT-PCR y ELISA, son las principales pruebas para el diagnóstico de EBOV (65-66).

El ácido nucleico viral se puede detectar en la sangre desde el día 3 al 16 después del inicio de los síntomas. El ácido nucleico se puede amplificar inactivando a las muestras con isotiocianato de guanidina, un químico caotrópico que desnaturaliza las proteínas del virus y deja a la muestra no infectocontagiosa (67). En la prueba de ELISA se determinan los niveles de IgG e IgM. Los anticuerpos IgM se detectan desde el día 2 del inicio de los síntomas y desaparece entre los días 30-168. Los anticuerpos IgG se detectan del día 6-18 desde el inicio de los síntomas y persisten por muchos años (23,68).

Otras técnicas de laboratorio usadas para el diagnóstico del EBOV son el aislamiento viral por cultivo celular y la tinción inmunohistoquímica. Sin embargo, estas dos

pruebas se realizan solamente en muestras de pacientes cadavéricos (68).

Tratamiento actual y perspectivas.

En la actualidad aún no se disponen de vacunas y fármacos antivirales específicos, aunque algunos de ellos ya están en fases iniciales de ensayos clínicos. Por lo tanto el tratamiento se basa en cuidados de sostén de las funciones hepáticas, hematológicas, pulmonares, cardíacas, renales y el manejo adecuado del choque. El uso de interferones, ribavirina y heparina no han demostrado utilidad (23,69-70).

Debido al brote de EBOV en el 2014 y a la ausencia de un tratamiento eficaz contra la enfermedad, la OMS aprobó el uso de suero de pacientes convalecientes para tratar a personas recién infectadas (71). En un estudio reciente, se ofrece la esperanza de un tratamiento efectivo para la infección por EBOV, el Zmapp, un coctel de 3 anticuerpos monoclonales obtenido de macacos Rhesus después de un desafío con EBOV. Sin embargo, esta forma de tratamiento requiere de más estudios de seguridad, aunque su uso en dos trabajadores de la salud durante el brote actual de EBOV, sugiere que el Zmapp podría proporcionar un tratamiento efectivo para la infección por EBOV (72).

En humanos, existen varios reportes acerca de la transferencia pasiva de anticuerpos policlonales a través de suero hiperinmune de pacientes convalecientes. Sin embargo, el completo éxito de esta terapia ha sido controversial y difícil de valorar, debido a las condiciones en que se llevaron a cabo los estudios (carencia de un adecuado control experimental, carencia del adecuado equipo médico, etc)(69,73-75). El éxito de la terapia pasiva, de anticuerpos policlonales y monoclonales, se demostró en roedores infectados por ZEBOV y SEBOV (76-78). Anticuerpos monoclonales dirigidos a la GP de ZEBOV mostraron protección y una propiedad terapéutica eficaz en un modelo murino pero al realizarlo en una población de PNH fracasó en

su protección (79). Por otra parte, el suero hiperinmune de caballo se había reportado que es benéfico en un modelo babuino infectado por EBOV. Sin embargo, este tratamiento fracasó en producir una significativa reducción en la morbilidad y mortalidad de macacos Rhesus y *Cynomolgus* infectados con EBOV (80). Recientemente, el tratamiento de PNH infectados con ZEBOV con una proteína C humana recombinante, lo único aprobado para sepsis grave, aumentó la supervivencia de 0% a 20% de los animales tratados (59).

Se ha informado que un compuesto derivado del T-705 pirazinecarboxamida llamada favipiravir (que funciona como un inhibidor de la replicación del virus de influenza), tiene eficacia al suprimir la replicación viral de EBOV en ensayos *in vitro* y ensayos *in vivo*. A un grupo de ratones carentes del receptor para IFN de tipo I e infectados con ZEBOV, se les administró este compuesto en el día 6 después de la infección y se observó una rápida eliminación del virus, una disminución de los parámetros bioquímicos de la enfermedad y evitó la muerte del 100% de los animales (26).

Basándose en la patogénesis de la enfermedad, el primer tratamiento identificado para los filovirus fue una droga que tiene como blanco el desarrollo de las anomalías de la coagulación y no el virus mismo (81,82). PNH infectados con ZEBOV y tratados con la proteína c2 recombinante anticoagulante de nematodo (rNAPc2) se protegieron en un 33% luego de administrarles rNAPc2 24 horas después de la infección. Se sugiere que este compuesto parece tener un efecto sobre el factor tisular (FT) mediando la activación de la ruta extrínseca de la coagulación (81).

La proteína C reactiva (PCR) también tiene una actividad fibrinolítica debido a su capacidad de unirse e inactivar al inhibidor activador del plasminógeno (PAI-1) e inactivarlo. Así, la PCR actúa como un agente fibrinolítico, anticoagulante y anti-inflamatorio. Los niveles de PCR disminuyen sustancialmente durante la infección por filovirus alcanzando niveles de un 40% de la línea base. En un estudio realizado en

PNH infectados con EBOV Zaire, se le administró una PCR recombinante humana y se observó una protección en el 20% de los animales y un significativo incremento en el tiempo de vida media en un 66% (59).

Las citocinas son mediadores clave de la inflamación y de daño vascular. Pueden inducir cambios en la estructura del endotelio que luego afectan la permeabilidad y desempeñan un papel clave en la regulación de la inflamación. Se sabe que el TNF- α induce cambios en la estructura del endotelio que incrementan la permeabilidad vascular. En un estudio *in vitro* utilizando un anticuerpo monoclonal anti TNF- α se demostró la disminución de la permeabilidad vascular (83).

El tratamiento con interferones o inductores del mismo no ha dado resultados satisfactorios aunque se sigue investigando al respecto (84)

El proceso de entrada viral ofrece potenciales blancos de tratamiento. Una de las áreas de interés reciente es el desarrollo de inhibidores de fusión. Se ha demostrado que las cisteín proteasas endosomales cathepsina y cathepsina B desempeñan un papel importante en la preparación de la GP viral para su interacción con las células del hospedero, generando una forma GP1 requerido para el proceso de infección. Se ha demostrado que la inhibición de estas cathepsinas por una droga o mediante siRNA (RNA de interferencia) produce una disminución significativa en la infección viral (85-87).

Se han informado buenos resultados con el uso de la tecnología anti-sentido en ensayos *in vitro* y *in vivo*. A la fecha se han obtenido los mejores resultados con el uso de oligómeros morfolino fosforodiamidato (PMOs) y siRNA. Los PMOs son moléculas neutras análogos al DNA de una sola cadena que se unen a secuencias complementarias de mRNA, mientras que siRNA son moléculas de doble cadena de RNA que bloquean la expresión de genes. Existen reportes en los que, tanto PMOs como siRNA inhiben la replicación de los filovirus en cultivo celular (88,89).

Desarrollo de vacunas.

La primera vacuna del EBOV consistió en el virión completamente inactivado por calor, formalina o radiación gama y no fue efectiva en roedores y PNH (90,91). La sobreexpresión de genes que codifican las proteínas virales ha sido la principal estrategia para el desarrollo de la vacuna. Actualmente hay varios candidatos a vacunas con resultados prometedores. Estas plataformas incluyen al replicón tipo virus (VRP) de la encefalitis equina de Venezuela (VEE), vacunas basadas en virus de estomatitis vesicular (VSV), adenovirus 5 (Ad5) y partículas tipo virus (VLPs) (92-97). Cada una de las vacunas tiene ventajas y desventajas respecto a la potencialidad, el vector utilizado, la inmunidad pre-existente y la seguridad.

También están en desarrollo vacunas terapéuticas. En ratones, la administración de una vacuna de VSV recombinante que expresa la glucoproteína de ZEBOV 30 minutos después de una exposición letal protegió 8 de 10 ratones. Una vacuna de VSV recombinante que expresa una glucoproteína de SEBOV protegió a 4 de 4 PNH después de una exposición letal con el EBOV. De igual manera, una vacuna de VSV recombinante que expresa una glucoproteína de ZEBOV proporcionó una protección parcial en un 50% en una población de macacos Rhesus luego de administrarse 30 minutos después del desafío (98). Además, una vacuna de VSV recombinante que expresa una glucoproteína de MARV protegió de forma completa a monos Rhesus después de una exposición (90).

Dada la gravedad de la actual epidemia de la EVE se ha informado que para finales del 2014 estarán en la fase I de ensayos clínicos a dos candidatos a vacunas, de los cuales se espera, sean probados en humanos en 2015 (100). La meta es desarrollar una vacuna capaz de desarrollar protección cruzada de interespecies contra ZEBOV, SEBOV, BEBOV y especies de virus de EBOV desconocidos.

Medidas adoptadas en México.

Dada la grave epidemia de EVE que ha afectado más de 15,000 personas en varios países de

África y la salida del virus de este continente a cuando menos dos países (España y Estados Unidos), a su alta mortalidad, falta de tratamiento y prevención eficaces y la posibilidad de bioterrorismo, la Secretaría de Salud publicó en octubre del 2014 los Lineamientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica y Diagnóstico por Laboratorio de enfermedad por el virus del Ébola (101). En ellos se establecen las medidas que deben ser adoptadas ante un caso sospechoso de EVE. Se enfatiza que ante un caso sospechoso de EVE se debe notificar inmediatamente a la Unidad de Enlace de la Dirección General de Epidemiología de la Unidad de Inteligencia Epidemiológica y Sanitaria (UIES) de la Secretaría de Salud quien se hará cargo de la situación.

El Caso Sospechoso será ingresado en el Centro de Atención Designado y será en este Centro donde se brindará la atención médica y se tomen las muestras por personal capacitado para su envío al InDRE mediante las condiciones de bioseguridad y biocustodia establecidas, para la confirmación o descarte del Caso.

Algo importante que hay que tener en cuenta, es que si bien es cierto que hay que darle la importancia que merece a la epidemia de EVE y tomar las medidas necesarias para evitar que el virus entre en México, no hay que caer en situación de pánico y evitar en lo posible los rumores infundados. Lo mejor es estar bien informado.

Bibliografía.

- Centers for Disease Control and Prevention. Outbreaks chronology: Ebola hemorrhagic fever. Centers for Disease Control and Prevention. Sitio Web Disponible en: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/resources/outbreak-table.html>. Acceso 15 de Noviembre de 2014.
- Centers for Disease Control and Prevention. Previous updates: 2014 West Africa outbreak. Centers for Disease Control and Prevention. Sitio Web. Disponible en: http://www.cdc.gov/vhf/ebola/outbreaks/guinea/recent_updates.html. Acceso 15 de Septiembre de 2014.
- Centers for Disease Control and Prevention. Ebola outbreak 2014: CDC surges its Ebola response. Centers for Disease Control and Prevention. Sitio Web. Disponible en: <http://www.cdc.gov/media/dpk/2014/dpk-ebola-outbreak.html>. Acceso 16 de Septiembre de 2014.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2014 Ebola outbreak in West Africa: case counts. Centers for Disease Control and Prevention. Sitio Web. Disponible en: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/outbreaks/guinea/index.html>. Acceso 23 de Noviembre de 2014.
- Fox M. Ebola surge: Obama to announce military-led fight. NBCNews. com. 15 de Septiembre de 2014. Disponible en: <http://www.nbcnews.com/storyline/ebola-virus-outbreak/ebola-surge-obama-announce-military-led-fight-n204106>. Acceso 16 de Septiembre de 2014.
- Feldmann H, Geisbert TW, Jahrling PB, *et al.* Filoviridae. In: Virus taxonomy: VIIIth report of the international committee on taxonomy of viruses. Fauquet C, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, Ball LA, eds. London: Elsevier/Academic Press, 2004: 645–53.
- Mühlberger E, Weik M, Volchkov VE, Klenk HD, Becker S. Comparison of the transcription and replication strategies of Marburg virus and Ebola virus by using artificial replication systems. J Virol, 1999, 73, 2333-42.
- Sanchez A, Trappier SG, Mahy BW, Peters CJ, Nichol ST. The virion glycoproteins of Ebola viruses are encoded in two reading frames and are expressed through transcriptional editing. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93, 3602-07.
- Volchkov VE, Becker S, Volchkova VA, *et al.* GP mRNA of Ebola virus is edited by the Ebola virus polymerase and by T7 and vaccinia virus polymerases. Virology, 1995, 214, 421-30.

10. Mohan GS, Li W, Ye L, Compans RW, Yang C. Antigenic subversión: a novel mechanism of host immune evasion by Ebola virus. *PLoS Pathog*, 2012, 12, 1-14.
11. Towner JS, Sealy TK, Khristova ML, *et al.* Newly discovered Ebola virus associated with hemorrhagic fever outbreak in Uganda. *PLoS Pathog*, 2008, 4, e1000212.
12. Nakayama E, Saijo M. Animal models for Ebola and Marburg virus infections. *Front Microbiol*, 2013, 4-267.
13. Martini GA, Knauff HG, Schmidt HA, Mayer G, Baltzer G. A hitherto unknown infectious disease contracted from monkeys. "Marburg-virus" disease. *Ger Med Mon*, 1968, 13, 10, 457-70.
14. Kiley MP, Bowen ET, Eddy GA, *et al.* Filoviridae: a taxonomic home for Marburg and Ebola viruses?. *Intervirology*, 1982, 18(1-2), 24-32.
15. Towner JS, Khristova ML, Sealy TK, *et al.* Marburgvirus genomics and association with a large hemorrhagic fever outbreak in Angola. *J Virol*, 2006, 80, 13, 6497-516.
16. WHO, Ebola haemorrhagic fever in Sudan, 1976. 1976, *Bull World Health Organ*. p. 247-270.
17. WHO, Ebola haemorrhagic fever in Zaire, 1976. Report of an international commission. 1978, *Bull, World Health Organ*, 271-293.
18. Dalgard DW, Hardy RJ, Pearson SL, *et al.* Combined simian haemorrhagic fever and Ebola virus infection in *Cynomolgus* monkeys. *Lab Anim Sci*, 1992, 42, 152-57.
19. Barrette RW, Metwally SA, Rowland JM, *et al.* Discovery of swine as a host for the Reston ebolavirus. *Science*, 2009, 325, 204-06.
20. Le Guenno B, Formenty P, Wyers M, *et al.* Isolation and partial characterisation of a new strain of Ebola virus. *Lancet*, 1995, 345, 1271-74.
21. Dowell SF, Mukunu R, Ksiazek TG, Khan AS, Rollin PE, Peters CJ. Transmission of Ebola hemorrhagic fever: a study of risk factors in family members, Kikwit, Democratic Republic of the Congo, 1995, Commission de Lutte contre les Epidemies a Kikwit. *J Infect Dis*, 1999, 179 Suppl 1, 87-91.
22. Rodriguez LL, De Roo A, Guimard Y, *et al.* Persistence and genetic stability of Ebola virus during the outbreak in Kikwit, Democratic Republic of the Congo, 1995. *J Infect Dis*, 1999, 179 Suppl 1, 170-176.
23. Rowe AK, Bertolli J, Khan AS, *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 Epidemies a Kikwit. *J Infect Dis*, 1999, 179 Suppl 1, 28-35.
24. Paessler S, Walker DH. Pathogenesis of the viral hemorrhagic fevers. *Annual review of pathology*, 2013, 8, 411-440.
25. Wauquier N, Becquart P, Padilla C, Baize S, Leroy EM. Human fatal zaire ebola virus infection is associated with an aberrant innate immunity and with massive lymphocyte apoptosis. *PLoS Negl Trop Dis*, 2010, 4,10, e837.
26. Oestereich L, Ludtke A, Wurr S, Rieger T, Muñoz-Fontela C, Gunther S. Successful treatment of advanced Ebola virus infection with T-705 (favipiravir) in a small animal model. *Antiviral Res*, 2014, 105, 17-21.
27. Marzi A, Feldmann H. Ebola virus vaccines: an overview of current approaches. *Expert Rev Vaccines*, 2014, 13, 521-531.
28. Breman JG, Johnson KM, van der Groen G, *et al.* A search for Ebola virus in animals in Democratic Republic of the Congo and Cameroon: ecologic, virologic and serologic surveys, 1979-1980. *J Infect Dis*, 1999, 179 (suppl 1), 139-47.
29. Leirs H, Mills JN, Krebs JW, *et al.* Search for the Ebola virus reservoir in Kikwit, Democratic Republic of the Congo: reflection on a vertebrate collection. *J Infect Dis*, 1999, 179 (suppl 1), 155-63.
30. Morvan JM, Deubel V, Gounon P, *et al.* Identification of Ebola virus sequences

- present as RNA or DNA in organs of terrestrial small mammals of the Central African Republic. *Microbes Infect*, 1999, 1, 1193-201.
31. Swanepoel R, Leman PA, Burt FJ, *et al.* Experimental inoculation of plants and animals with Ebola virus. *Emerg Infect Dis*, 1996, 2, 321-25.
 32. Leroy EM, Kumulungui B, Pourrut X, *et al.* Fruit bats as reservoirs of Ebola virus. *Nature*, 2005, 438, 575-76.
 33. Pourrut X, Délicat A, Rollin PE, Ksiazek TG, Gonzalez JP, Leroy EM. Spatial and temporal patterns of Zaire ebolavirus antibody prevalence in the possible reservoir bat species. *J Infect Dis*, 2007, 196 (suppl 2), 176–83.
 34. Towner JS, Amman BR, Sealy TK, *et al.* Isolation of genetically diverse Marburg viruses from Egyptian fruit bats. *PLoS Pathog*, 2009, 5, e1000536.
 35. Leroy EM, Rouquet P, Formenty P, *et al.* 'Multiple Ebola virus transmission events and rapid decline of central African wildlife'. *Science*, 2004, 303, 387-390. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1092528>, PMID:14726594.
 36. Leroy EM, Epelboin A, Mondonge V, *et al.* Human Ebola outbreak resulting from direct exposure to fruit bats in Luebo, Democratic Republic of Congo, 2007. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 2009, 9, 723-28.
 37. Leroy EM, Gonzalez JP, Baize S. 'Ebola and Marburg haemorrhagic fever viruses: major scientific advances, but a relatively minor public health threat for Africa', *Clin Microbiol Infect*, 2011, 17, 964-976. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03535.x>, PMID:21722250.
 38. Leffel EK, Reed DS. Marburg and Ebola viruses as aerosol threats. *Biosecur Bioterror*, 2004, 2, 3, 186-91.
 39. Bausch DG, Towner JS, Dowell SF, *et al.* Assessment of the risk of Ebola virus transmission from bodily fluids and fomites. *J Infect Dis*, 2007, 196 (Supplement 2), 142-147. <http://dx.doi.org/10.1086/520545>, PMID:17940942.
 40. Dowell SF, Mukunu R, Ksiazek TG, Khan AS, Rollin PE, Peters CJ. Transmission of Ebola haemorrhagic fever: a study of risk factors in family members, Kikwit, Democratic Republic of the Congo, 1995. *Commission de Lutte contre les Epidémies à Kikwit. J Infect Dis*, 1999, 179 (suppl 1), S87-91.
 41. Bosio CM, Aman MJ, Grogan C, Hogan R, Ruthel G, Negley D, Mohamadzadeh M, Bavari S, Schmaljohn A. Ebola and Marburg viruses replicate in monocyte-derived dendritic cells without inducing the production of cytokines and full maturation. *J Infect Dis*, 2003, 188, 11, 1630-8.
 42. Mahanty S, Hutchinson K, Agarwal S, Mcrae M, Rollin PE, Pulendran B. Cutting edge: impairment of dendritic cells and adaptive immunity by Ebola and Lassa viruses. *J Immunol*, 2003, 170, 6, 2797–27801.
 43. Okumura A, Pitha PM, Yoshimura A, Harty RN. Interaction Between Ebola Virus Glycoprotein and Host TLR-4 Leads to Induction of Pro-Inflammatory Cytokines and SOCS1. *J Virol*, 2009, doi:10.1128/JVI.01462-09.
 44. Saeed MF, Kolokoltsov AA, Albrecht T, Davey RA. Cellular Entry of Ebola Virus Involves Uptake by a Macropinocytosis-Like Mechanism and Subsequent Trafficking through Early and Late Endosomes. *PLoS Pathog*, 2010, 6, 9, e1001110
 45. Miller EH, Obernosterer G, Raaben M, Herbert AS, *et al.* Ebola virus entry requires the host-programmed recognition of an intracellular receptor. *EMBO J*, 2012, 31, 1947-1960
 46. Jahrling PB, Geisbert TW, Jaax NK, Hanes MA, Ksiazek TG, Peters CJ. Experimental infection of cynomolgus macaques with Ebola-Reston filoviruses from the 1989-1990 U.S. epizootic. *Arch Virol*, 1996, 11, 115-34.
 47. Geisbert TW, Hensley LE, Larsen T, *et al.* Pathogenesis of Ebola haemorrhagic fever

- in cynomolgus macaques: evidence that dendritic cells are early and sustained targets of infection. *Am J Pathol*, 2003, 163, 2347-70.
48. Schnittler HJ, Feldmann H. Marburg and Ebola haemorrhagic fevers: does the primary course of infection depend on the accessibility of organ-specific macrophages? *Clin Infect Dis*, 1998, 27, 404-06.
 49. Yang ZY, Duckers HJ, Sullivan NJ, Sanchez A, Nabel EG, Nabel GJ. Identification of the Ebola virus glycoprotein as the main viral determinant of vascular cell cytotoxicity and injury. *Nat Med*, 2000, 6, 886–89.
 50. Geisbert TW, Young HA, Jahrling PB, Davis KJ, Kagan E, Hensley LE. Mechanisms underlying coagulation abnormalities in ebola haemorrhagic fever: overexpression of tissue factor in primate monocytes/macrophages is a key event. *J Infect Dis*, 2003, 188, 1618-29.
 51. Baize S, Leroy EM, Georges-Courbot MC, *et al.* Defective humoral responses and extensive intravascular apoptosis are associated with fatal outcome in Ebola virus-infected patients. *Nat Med*, 1999, 5, 423-26.
 52. Geisbert TW, Hensley LE, Gibb TR, Steele KE, Jaax NK, Jahrling PB. Apoptosis induced in vitro and in vivo during infection by Ebola and Marburg viruses. *Lab Invest*, 2000, 80, 171-86.
 53. Hensley LE, Young HA, Jahrling PB, Geisbert TW. Proinflammatory response during Ebola virus infection of primate models: possible involvement of the tumor necrosis factor receptor superfamily. *Immunol Lett*, 2002, 80, 169-79.
 54. Bosio CM, Aman MJ, Grogan C, *et al.* Ebola and Marburg viruses replicate in monocyte-derived dendritic cells without inducing the production of cytokines and full maturation. *J Infect Dis*, 2003, 188, 1630-38.
 55. Chepurinov AA, Tuzova MN, Ternovoy VA, Chernukhin IV. Suppressive effect of Ebola virus on T cell proliferation in vitro is provided by a 125-kDa GP viral protein. *Immunol Lett*, 1999, 68, 257-61.
 56. Feldmann H, Geisbert T, Kawaoka Y. Filoviruses: recent advances and future challenges. *J Infect Dis*, 2007, 196, 2, 129-443.
 57. Breman JG, Piot P, Johnson KM, *et al.* The epidemiology of Ebola haemorrhagic fever in Zaire, 1976. In: Pattyn S, ed. *Ebola Virus Haemorrhagic Fever*. Amsterdam: Elsevier/North Holland, 1978, 103-24.
 58. Rollin PE, Bausch DG, Sanchez A. Blood Chemistry Measurements and D-Dimer Levels Associated with Fatal and Nonfatal Outcomes in Humans Infected with Sudan Ebola Virus. *J Infect Dis*, 2007, 196, 2, 364-71.
 59. Hensley LE, Stevens EL, Yan SB, *et al.* Recombinant human activated protein C for the postexposure treatment of Ebola haemorrhagic fever. *J Infect Dis*, 2007, 196, 2, 390-99.
 60. Villinger F, Rollin PE, Brar SS, *et al.* Markedly elevated levels of interferon (IFN)-gamma, IFN-alpha, interleukin (IL)-2, IL-10, and tumor necrosis factor-alpha associated with fatal Ebola virus infection. *J Infect Dis*, 1999, 179, 1, 188–91.
 61. Basler CF, Mikulasova A, Martinez-Sobrido L, *et al.* The Ebola virus VP35 protein inhibits activation of interferon regulatory factor 3. *J Virol*, 2003, 77, 7945-56.
 62. Balser CF, Palese P. Modulation of innate immunity by filoviruses. In: Klenk HD, Feldmann H, eds. *Ebola and Marburg Viruses-Molecular and Cellular Biology*. Norfolk, VA: Horizon Bioscience. 2004, 305-49.
 63. Sanchez A, Lukwiya M, Bausch D *et al.* Analysis of human peripheral blood samples from fatal and nonfatal cases of Ebola (Sudan) hemorrhagic fever: cellular responses, virus load, and nitric oxide levels. *J Virol*, 2004, 78, 10370-77.
 64. Geisbert TW, Young HA, Jahrling PB, Davis KJ, Larsen T, Kagan E, Hensley LE.

- Pathogenesis of Ebola haemorrhagic fever in primate models: evidence that haemorrhage is not a direct effect of virus induced cytolysis of endothelial cells. *Am J Pathol*, 2003, 163, 2371-82.
65. Sanchez A, Geisbert TW, Feldmann H. Filoviridae: Marburg and Ebola viruses. In: Knipe DM, Howley PM, eds. *Fields virology*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2006, 1409-48.
 66. Strong JE, Grolla A, Jahrling PB, Feldmann H. Filoviruses and arenaviruses. In: Detrick B, Hamilton RG, Folds JD, eds. *Manual of Molecular and Clinical Laboratory Immunology*. 7th edn. Herndon, Virginia: ASM Press, 2006, 774-90.
 67. Towner JS, Sealy TK, Ksiazek TG, Nichol ST. High-throughput molecular detection of haemorrhagic fever virus threats with applications for outbreak settings. *J Infect Dis*, 2007, 196, 2, 205-12.
 68. Ebola hemorrhagic fever: diagnosis. Centers for Disease Control and Prevention Web site. Available at: <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/diagnosis/index.html>. Actualización Agosto 5, 2014. Acceso Noviembre 20, 2014.
 69. Stille W, Bohle E, Helm E, van Rey W, Siede W. Retrospective Evaluation of Control Measures for Contacts of Patient with Marburg Hemorrhagic Fever. *Ger Med Mon*, 1999, 13, 10, 470-8.
 70. De Wit E, Feldmann H, Munster V. Tackling Ebola: new insights into prophylactic and therapeutic intervention strategies. *Genome Med*, 2011, 3, 5
 71. Gulland A. First Ebola treatment is approved by WHO. *BMJ*, 2014, 349, 5539.
 72. McCarthy M. US signs contract with ZMapp maker to accelerate development of the Ebola drug. *BMJ*, 2014, 349, 5488.
 73. Mupapa K, Massamba M, Kibadi K, *et al.* Treatment of Ebola hemorrhagic fever with blood transfusions from convalescent patients. International Scientific and Technical Committee. *J Infect Dis*, 1999, 179, 1, 18-23.
 74. Slenczka WG. The Marburg virus outbreak of 1967 and subsequent episodes. *Curr Top Microbiol Immunol*, 1999, 235, 49-75.
 75. Feldmann H, Jones S, Klenk HD, Schnittler HJ. Ebola virus: from discovery to vaccine. *Nat Rev Immunol*, 2003, 3, 8, 677-85.
 76. Maruyama T, Parren PW, Sanchez A, *et al.* Recombinant human monoclonal antibodies to Ebola virus. *J Infect Dis*, 1999, 179, 1, 235-9.
 77. Parren PW, Geisbert TW, Maruyama T, Jahrling PB, Burton DR. Pre- and postexposure prophylaxis of Ebola virus infection in an animal model by passive transfer of a neutralizing human antibody. *J Virol*, 2002, 76, 12, 6408-12.
 78. Wilson JA, Hevey M, Bakken R, Guest S, Bray M, Schmaljohn AL, Hart MK. Epitopes involved in antibody-mediated protection from Ebola virus. *Science*, 2000, 287, 5458, 1664-6.
 79. Oswald WB, Geisbert TW, Davis KJ, Geisbert JB, Sullivan NJ, Jahrling PB, Parren PW, Burton DR. Neutralizing antibody fails to impact the course of Ebola virus infection in monkeys. *PLoS Pathog*, 2007, 3, 1, e9.
 80. Krasnianskii BP, Mikhailov VV, Borisevich IV, Gradoboev VN, Evseev AA, Pshenichnov VA. Preparation of hyperimmune horse serum against Ebola virus. *Vopr Virusol*, 1995, 40, 3, 138-40.
 81. Geisbert TW, Hensley LE, Jahrling PB, *et al.* Treatment of Ebola virus infection with a recombinant inhibitor of factor VIIa/tissue factor: a study in rhesus monkeys. *Lancet*, 2003, 362, 9400, 1953-8.
 82. Mammen EF. Disseminated intravascular coagulation (DIC). *Clin Lab Sci*, 2000, 13, 4, 239-45.
 83. Ablin JN, Boguslavski V, Aloush V, Elkayam O, Paran D, Caspi D. Effect of anti-TNF alpha treatment on circulating endothelial progenitor cells (EPCs) in rheumatoid arthritis. *J Life Sci*, 2006, 79, 25, 2364-9.
 84. Peters CJ, LeDuc JW. Ebola: the virus and the disease. *J Infect Dis*, 1999, 179, 1, p. ixvii.

85. Schornberg K, Matsuyama S, Kabsch K, Delos S, Bouton A, White J. Role of endosomal cathepsins in entry mediated by the Ebola virus glycoprotein. *J Virol*, 2006, 80, 8, 4174-8.
86. Brindley MA, Hughes L, Ruiz A, McCray PB, Sanchez A, Sanders DA, Maury W. Ebola virus glycoprotein 1: identification of residues important for binding and postbinding events. *J Virol*, 2007, 81, 14, 7702-9.
87. Sanchez A. Analysis of Filovirus Entry into Vero E6 Cells, Using Inhibitors of Endocytosis, Endosomal Acidification, Structural Integrity, and Cathepsin (B and L) Activity. *J Infect Dis*, 2007, 196, 2, 251-8.
88. Enterlein S, Warfield KL, Swenson DL, *et al.* VP35 knockdown inhibits Ebola virus amplification and protects against lethal infection in mice. *Antimicrob Agents Chemother* 2006, 50, 3, 984-93.
89. Geisbert TW, Lee AC, Robbins M, *et al.* Postexposure protection of non-human primates against a lethal Ebola virus challenge with RNA interference: a proof-of-concept study. *Lancet*, 2010, 375, 9729, 1896-905.
90. Lupton HW, Lambert RD, Bumgardner DL, Moe JB, Eddy GA. Inactivated vaccine for Ebola virus efficacious in guineapig model. *Lancet*, 1980, 2, 8207, 1294-5.
91. Chupurnov AA, Chernukhin IV, Ternovoi VA, Kudoiarova NM, Makhova NM, Azaev MS, Smolina MP. Attempts to develop a vaccine against Ebola fever. *Vopr Virusol*, 1995, 40, 6, 257-60.
92. Richardson JS, Yao MK, Tran KN, Croyle MA, Strong JE, Feldmann H, Kobinger GP. Enhanced protection against Ebola virus mediated by an improved adenovirus-based vaccine. *PLoS One*, 2009, 4, 4, e5308.
93. Choi JH, Schafer SC, Zhang L, Kobinger GP, Juelich T, Freiberg AN, Croyle MA. A single sublingual dose of an adenovirus-based vaccine protects against lethal Ebola challenge in mice and guinea pigs. *Mol Pharm*, 2012, 9, 1, 156-67.
94. Geisbert TW, Daddario-Dicaprio KM, Geisbert JB, *et al.* Vesicular stomatitis virus-based vaccines protect nonhuman primates against aerosol challenge with Ebola and Marburg viruses. *Vaccine*, 2008, 26, 52, 6894-900.
95. Geisbert TW, Bailey M, Hensley L, *et al.* Recombinant adenovirus serotype 26 (Ad26) and Ad35 vaccine vectors bypass immunity to Ad5 and protect nonhuman primates against Ebola virus challenge. *J Virol*, 2011, 85, 9, 4222-33.
96. Tsuda Y, Safronetz D, Brown K, Lacasse R, Marzi A, Ebihara H, Feldmann H. Protective efficacy of a bivalent recombinant vesicular stomatitis virus vaccine in the Syrian hamster model of lethal Ebola virus infection. *J Infect Dis*, 2011, 204, 3, 1090-7.
97. Geisbert TW, Feldmann H. Recombinant vesicular stomatitis virus-based vaccines against Ebola and Marburg virus infections. *J Infect Dis*, 2011, 204, 3, 1075-81.
98. Geisbert TW, Daddario-Dicaprio KM, Williams KJ, Geisbert JB, Leung A, Feldmann F, Hensley LE, Feldmann H, Jones SM. Recombinant vesicular stomatitis virus vector mediates postexposure protection against Sudan Ebola hemorrhagic fever in nonhuman primates. *J Virol*, 2008, 82, 11, 5664-8.
99. Daddario-DiCaprio KM, Geisbert TW, Stroher U, *et al.* Postexposure protection against Marburg haemorrhagic fever with recombinant vesicular stomatitis virus vectors in non-human primates: an efficacy assessment. *Lancet*, 2006, 367, 9520, 1399-404.
100. Fauci AS. Ebola-underscoring the global disparities in health care resources. *N Engl J Med*, 2014, 371, 1084-1086.
101. Secretaría de Salud. Dirección General de Epidemiología. Lineamientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica y Diagnóstico por Laboratorio de enfermedad por el virus del Ébola, octubre 2014.