



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de

Autor/es

Director/es

Facultad de Veterinaria

Índice

RESUMEN	1
ABSTRACT	1
INTRODUCCIÓN	2
Descripción del virus del Ébola	3
Etiología	3
Patogenia	4
Sintomatología	5
Transmisión	6
Diagnóstico	7
Prevención	7
JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	8
METODOLOGÍA	9
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	10
Animales y el virus del Ébola	10
Murciélagos como reservorio	10
El virus del Ébola en primates	13
Cerdos y la cepa Reston	16
Evidencias del virus en perros	19
El Ébola en otros animales	23
EVE en modelos animales	24
CONCLUSIONES	25
CONCLUSIONS	25
VALORACIÓN PERSONAL	26
BIBLIOGRAFÍA	26

Resumen

La enfermedad del Ébola está producida por un virus del género filovirus. Esta enfermedad infecciosa tiene su origen en el río Ébola, en la República Democrática del Congo y está principalmente presente en áreas de aldeas remotas de África oriental y occidental. Es considerada por la OMS como una de las enfermedades más virulentas del mundo en humanos. El virus del Ébola comprende cinco cepas distintas con diferente virulencia, las cuales, además de contagiarse entre humanos, son capaces de transmitirse entre animales, teniendo estos un papel importante en la dinámica de la infección y pudiendo también sufrir sus consecuencias. A pesar de que no se conoce con exactitud el mecanismo de transmisión y los efectos del virus sobre las diferentes especies, a partir de estudios realizados, principalmente epidemiológicos y serológicos, se han encontrado evidencias de la presencia del virus y del posible papel sobre su transmisión en varias especies animales como son los murciélagos, primates, cerdos o perros.

En este trabajo se ha realizado una revisión bibliográfica a partir de estudios de campo mediante la detección serológica de anticuerpos, presencia de signos clínicos, aislamiento del virus y estudios epidemiológicos con el objetivo de definir el papel de los animales en la epidemiología del virus y su perpetuación, así como para conocer de qué manera puede afectar el virus a las diferentes especies animales. Estos estudios han definido a los murciélagos de la fruta como posibles reservorios naturales del virus, y a los primates como especie sensible al virus, sufriendo la enfermedad de manera similar a los humanos. Por último, también han evidenciado la presencia de la cepa Reston del virus del Ébola en cerdos, y la presencia de anticuerpos frente al virus en perros.

Abstract

Ebola disease is caused by a virus of the genus filovirus. This infectious disease has its origin in the Ebola River in the Democratic Republic of Congo and is mainly present in areas of remote villages in East and West Africa. It is considered by WHO as one of the world most virulent diseases affecting humans. The Ebola virus comprises five different strains with different virulence, which, in addition to spread among humans, are able to be transmitted between animals, taking these an

important role in the dynamics of infection and suffering the consequences. Although the mechanism of transmission and the effects of the virus on the different animal species are not well known, several studies, mainly epidemiological and serological, have found evidence of the presence of virus and their possible role on transmission in several animal species such as bats, primates, pigs or dogs.

In this work, there has been conducted a review of several studies using serological detection of antibodies, presence of clinical signs, virus isolation and epidemiological studies in order to define the role of animals in the epidemiology of the virus and its perpetuation, as well as to know how the virus can affect the different animal species. These studies have managed to define the fruit bats as a potential natural reservoir of the virus, and primates as sensitive species, suffering disease similar to humans. There has also been observed the presence of the Reston strain of Ebola virus in pigs, and some studies evidence the presence of antibodies against the virus in dogs.

Introducción

La enfermedad del virus del Ébola ha sido descrita como una de las enfermedades más virulentas del mundo por la OMS con una tasa de mortalidad de alrededor de un 50-90% en humanos. La infección por el virus del Ébola fue identificada por primera vez en Sudán y en la República Democrática del Congo. La enfermedad aparece normalmente en brotes en las regiones tropicales del África subsahariana (Lugones et al, 2014). Entre 1976 (año en el que se detectó el virus por primera vez) y 2015, el número total de casos ha llegado a 26.593, de los cuales 11.005 fallecieron. Hasta 2014 los brotes de Ébola sólo habían afectado a regiones concretas de África, pero a partir de la epidemia de 2014 originada en África Occidental, se han producido contagios en otros continentes con casos exportados a países de Europa y América del Norte. El brote de 2014-2015 fue el más virulento, y afectó a Guinea, Sierra Leona, Liberia y Nigeria. En la zona de África occidental, sólo se han conocido casos de una de las cepas, la Tai Forest, en Costa de Marfil en 1994. Además, en el año 1989 se descubrió la cepa Reston, teniendo su origen en Filipinas (Passi *et al.*, 2015; OIE, 2015).

La infección por el virus Ébola causa una grave enfermedad hemorrágica en humanos, pasando por varias fases y finalizando en muchos casos con la muerte. El virus del Ébola está representado por cinco cepas diferentes: Ébola-Zaire, Ébola-Sudan, Ébola-Reston, Ébola-Tai Forest y Ébola-

Bundigubyo (tabla 1), siendo el más virulento de todos con una mayor tasa de mortalidad el Ébola-Zaire (Gumusova *et al.*, 2015; EFSA, 2014).

Cepa	Abreviatura	Año aparición	Lugar	Tasa mortalidad
Zaire	ZEBOV	1976	Zaire	70-90%
Sudán	SEBOV	1976	Sudán	40-65%
Reston	REBOV	1989	Reston (Virginia, EEUU)	-
Tai-forest o Costa de Marfil	CEBOV	1994	Costa de Marfil	-
Bundibugyo	BEBOV	2007	Uganda	20-30%

Tabla 1. Determinación de las diferentes cepas del virus del Ébola con su año de aparición, origen y tasa de mortalidad.

Los estudios epidemiológicos y analíticos realizados en los diferentes brotes, han podido ir esclareciendo la naturaleza del contagio y la aparición de la enfermedad, observándose que el virus puede transmitirse a los humanos por contacto directo con ciertos animales infectados y habiéndose demostrado en muchos de los brotes un primer contacto de un paciente 0 con algún animal potencialmente infectado por el virus. La cadena de transmisión continúa con el contacto directo con personas infectadas o con su sangre o fluidos corporales, siendo lo más frecuente las infecciones nosocomiales debido a la transmisión de persona a persona en los centros sanitarios donde se atienden a los enfermos, sobre todo al comienzo de los brotes cuando aún no se conocía la naturaleza del contagio. Por esto el grupo principal de riesgo son los trabajadores de la salud y las personas que cuidan a pacientes en el hospital o en casa, así como los que han tenido contacto directo con las personas que murieron, a menudo debido a las prácticas funerarias tradicionales (Gumusova *et al.*, 2015).

Descripción del virus del Ébola

Etiología

La enfermedad del virus del Ébola (EVE) es también conocida como fiebre hemorrágica del Ébola. La EVE es una enfermedad infecciosa grave que afecta principalmente a humanos y a primates, aunque existen ciertas evidencias de la infección de otras especies animales, lo que es objeto de estudio de este trabajo.

El agente causal se clasifica en el género *Ebolavirus* de la familia *filoviridae*. Como miembro de la orden Mononegavirales, los filovirus son virus con envuelta filamentosa que contiene un genoma

RNA no segmentado de polaridad negativa, de aproximadamente 19 kilobases. El primer brote de EVE se encontró en el Zaire (la ahora República Democrática del Congo) en 1976 y fue nombrado así por la proximidad al río Ébola. Las 5 cepas conocidas del virus del Ébola son: Zaire, Sudan, Bundibogyo, Reston y el Tai Forest. Sus genomas pueden diferir entre ellos en un 30-40%. Todos salvo la especie Reston han sido detectados únicamente en África (Gumusova *et al.*, 2015; OIE, 2015).

En cuanto a la estructura del virus, como todos los filovirus, los viriones del Ébola son partículas filamentosas que pueden aparecer en forma recta, curva o en forma de “U” o “6”, pudiendo ser enrollados, toroides o ramificados. En general, los viriones tienen una anchura de 80 nm pero pueden variar algo en longitud. La media de longitud de las partículas es de entre 974 a 1,068 nm (en contraste con los viriones de Marburgo, los cuales poseen una longitud media de sus partículas de 795 – 828 nm), aunque han llegado a detectarse partículas de hasta 1400 nm en cultivos de tejidos (Sriram, 2014).

Patogenia

El virus del Ébola puede sobrevivir en líquido o material seco durante muchos días, no obstante, puede ser inactivado mediante radiación gamma o mediante tratamiento térmico durante 60 minutos a 60°C o durante 5 minutos a 100°C. Es sensible al hipoclorito de sodio y otros desinfectantes, sin embargo, la congelación o la refrigeración no lo inactivan (Rewar *et al.*, 2014).

Al igual que otros filovirus, el virus del Ébola afecta a todo el organismo provocando una creciente coagulación intravascular diseminada, que degrada rápidamente la hemostasia y el funcionamiento de los órganos vitales. La infección se dirige principalmente a las células endoteliales, los fagocitos mononucleares (monocitos, macrófagos, células dendríticas, mastocitos) y los hepatocitos. Se acompaña de la neutralización rápida de ciertas poblaciones de linfocitos T por un superantígeno (Sriram, 2014).

La entrada del virus del Ébola en las células depende de la proteína NPC1. En las células normales, la proteína NPC1 actúa sobre la proteína NPC2 para transportar las moléculas grandes hidrófobas a través del sistema endosoma-lisosoma. Así se ha observado que cuando esta proteína no es funcional, el virus del Ébola o el virus de Marburg no pueden entrar en la célula, por lo que ésta permanece indemne a pesar de la presencia del virus (Lu *et al.* 2015).

Una vez que el virus está en la célula, segrega la glicoproteína soluble sGP y la glicoproteína estructural GP. La replicación del virus satura la síntesis de proteínas en las células infectadas, particularmente las del sistema inmune del huésped. La glicoproteína GP forma un complejo trimérico que une el virus a las células endoteliales que tapizan el interior de los vasos sanguíneos, mientras que la glicoproteína secretada sGP forma un dímero que interfiere con los granulocitos neutrófilos, permitiendo que el virus escape al sistema inmune del huésped por inactivación precoz de los neutrófilos. Estos leucocitos inactivados sirven entonces como portadores del virus del Ébola por todo el cuerpo, afectando los ganglios linfáticos, el hígado, el pulmón y el bazo. La presencia de partículas virales, y los daños causados a las células por la eclosión, provocan la liberación de citoquinas (TNF α , IL-6, IL-8, etc.), que causan fiebre e inflamación. El daño a las células epiteliales por el efecto citopático conduce a la pérdida de la integridad vascular, agravado por un lado por la glicoproteína viral que reduce la eficacia de las integrinas responsables de la adherencia de las células en las estructuras intercelulares, y en segundo lugar por el daño hepático responsable de la coagulopatía (Sriram, 2014).

El virus del Ébola ha sido pues asociado a fiebre hemorrágica en humanos y primates no humanos principalmente, así como también se han mostrado evidencias del efecto del virus en otras especies animales, con diferencias en la patogenia dependiendo tanto del hospedador como de la cepa vírica de la que se trate (OIE, 2015).

Síntomas

Después de un periodo de incubación de cinco a nueve días con un rango de 1-21 días, comienza la aparición de sintomatología. Las características clínicas se pueden dividir en cuatro fases principales (Muyembe-Tamfum *et al.* 2012):

- Fase A. Síndrome similar a la gripe: El inicio es brusco con síntomas o signos no específicos tales como fiebre alta, dolor de cabeza, artralgia, mialgia, dolor de garganta, malestar general y náuseas.
- Fase B. Aguda (día 1-6): Fiebre persistente que no responde a los fármacos antipiréticos o antibióticos, dolor de cabeza y fatiga intensa, seguido de diarrea, dolor abdominal, anorexia y vómitos.

- Fase C. Pseudo-remisión (días 7-8): Durante esta fase el paciente se siente mejor. La situación de salud se presenta con algunas mejoras. Algunos pacientes pueden recuperarse durante esta fase y sobrevivir a la enfermedad.
- Fase D. Empeoramiento (día 9): En muchos, si no la mayoría de los casos, el estado de salud empeora. Se pueden observar los siguientes síntomas:
 - Trastornos respiratorios: disnea, dolor de garganta y pecho, tos e hipo.
 - Síntomas de diátesis hemorrágica: diarrea con sangre, hematemesis, inyección conjuntival, hemorragia gingival, hemorragias nasales y sangrado en el lugar de la inyección con coagulación intravascular diseminada.
 - Manifestaciones cutáneas: petequias, púrpura.
 - Manifestaciones neuro-psiquiátricas: postración, delirio, confusión, coma.
 - Daño cardiovascular, shock hipovolémico y muerte.

A partir de estas manifestaciones clínicas es obvio que EVE puede confundirse con muchas otras enfermedades tropicales como la malaria, la fiebre tifoidea o la fiebre amarilla en el inicio de la enfermedad. En la mayoría de los brotes, el reconocimiento de la enfermedad se retrasa porque los médicos no están acostumbrados a esta nueva enfermedad y los síntomas son generalmente no específicos. Fuera del contexto de la epidemia, parece bastante imposible reconocer el primer caso de Ébola en un brote en términos clínicos únicamente. La sospecha de la EVE sólo es posible después o durante la fase de empeoramiento (Muyembe-Tamfum *et al.*, 2012; Sriram, 2014)

Hay que tener en cuenta que la descripción de estos síntomas generales está basada en la enfermedad en humanos, siendo esta semejante a la de primates frente a cepas virulentas como puede ser la cepa Zaire, mientras que el resto de animales que pueden infectarse por el virus del Ébola pueden desarrollar otro tipo de sintomatología más leve, o incluso aparecer asintomáticos (Gumusova *et al.*, 2015).

Transmisión

El virus del Ébola es altamente transmisible por contacto directo con sangre infectada, secreciones, tejidos, órganos y otros fluidos corporales de personas o animales infectados.

También podría darse la transmisión a través de objetos inanimados contaminados con fluidos corporales. El principal modo de transmisión en los brotes de humanos es de persona a persona por contacto directo con cadáveres o casos sintomáticos de Ébola (Rewar *et al.*, 2014).

Según las investigaciones se cree que este virus es de origen animal y es totalmente dependiente de su hospedador para su replicación y supervivencia (CDC, 2016). Así pues, los científicos creen que el primer paciente se infectó a través del contacto con un animal infectado, como murciélagos frugívoros o primates (simios y monos). Después de este primer contagio a partir de una fuente animal, se produce la transmisión de persona a persona. El virus se puede propagar a través del contacto directo con:

- Sangre o líquidos corporales (incluidos, la orina, la saliva, el sudor, las heces, el vómito, la leche materna y el semen) de una persona que tiene la enfermedad del Ébola o murió a causa de esta.
- Objetos (como agujas, jeringuillas u otros) contaminados con líquidos corporales de una persona enferma o fallecida a causa de la EVE.
- Murciélagos frugívoros o primates (simios y monos) infectados, o a través de otros animales hospedadores potenciales como podrían ser los cerdos o los perros (Passi *et al.*, 2015).

El virus del Ébola no se propaga por el aire o el agua ni, en general, a través de los alimentos. Sin embargo, un estudio experimental demostró la transmisión por vía aerógena entre primates (Schou *et al.*, 2000), y hay ciertas teorías que apuntan a que una persona podría contagiarse de Ébola al alimentarse de frutas contaminadas con saliva o heces provenientes de animales infectados. La hipótesis más apoyada y la que parece más habitual es que el virus se propague al manipular cadáveres de animales salvajes como los primates (cazados para la alimentación) y por contacto con murciélagos infectados (muchas veces también como consecuencia de la caza y consumo de su carne), o algún otro animal capaz de transmitir el virus (Rewar *et al.*, 2014; EFSA, 2014). Sólo algunas especies de mamíferos (humanos, murciélagos, primates y cerdos) han demostrado la capacidad de ser infectados con el virus del Ébola y contagiarlo. No hay evidencias de transmisibilidad durante el periodo de incubación viral a partir de individuos asintomáticos y afebriles. El riesgo de transmisión aumenta significativamente mediante el contacto directo con un paciente en la fase aguda de la enfermedad (Rewar *et al.*, 2014).

Diagnóstico

La confirmación laboratorial temprana de los casos sospechosos de fiebre hemorrágica del Ébola es esencial para poner en práctica las medidas de control adecuadas. El diagnóstico definitivo de los casos sospechosos se hace generalmente mediante la detección por PCR y por el aislamiento del virus en células Vero. Como patógeno de clase 4, el cultivo del virus del Ébola requiere instalaciones de contención máxima. Las pruebas de diagnóstico adicionales incluyen ELISA para la detección de anticuerpos IgG e IgM Ébola-específicos. También están disponibles pruebas moleculares más especializadas aunque no son de fácil acceso en el entorno habitual de la enfermedad (Muyembe-Tamfum *et al.*, 2012).

Generalmente se detecta en la sangre cuando la fiebre y los síntomas han aparecido. El ARN viral alcanza su pico alrededor del quinto día después de la aparición de los síntomas y generalmente es positivo en sangre durante el tiempo que los síntomas clínicos están presentes. La técnica de PCR se puede realizar en suero, plasma, sangre entera o fluidos corporales.

Los anticuerpos de tipo IgM pueden ser detectados en muestras de sangre en los días después de la aparición de los primeros síntomas de la enfermedad mediante ELISA, pero su sensibilidad es inferior a la RT-PCR. Los hemocultivos del virus son generalmente positivos en las primeras fases, pero esto no se debe hacer sin un laboratorio de bioseguridad nivel 4 (Sriram, 2014; Gumusova *et al.*, 2015)

El grupo de enfermedades que se deben descartar antes de la realización de un diagnóstico de Ébola incluye: la malaria, la fiebre tifoidea, shigelosis, cólera, leptospirosis, la peste, la rickettsiosis, fiebre recurrente, la meningitis, la hepatitis viral y otras fiebres hemorrágicas (Sriram, 2014).

Prevención

En ausencia de un tratamiento eficaz y una vacuna, el control de los factores de riesgo y las medidas de protección personales son la única forma de reducir el contagio en humanos y la muerte. En África, durante los brotes de EVE, la educación en salud pública para reducir el riesgo debe centrarse en varios factores:

- La reducción del riesgo de transmisión del virus desde la fauna silvestre a los humanos

evitando el contacto con murciélagos de la fruta, primates y otros animales, así como la consumición de su carne cruda. Los cuerpos y canales de los animales deben ser manipulados con guantes y otros equipos de protección apropiados, y la carne debe ser debidamente cocinada.

- La reducción del riesgo de transmisión de humano a humano por contacto directo o cercano con pacientes infectados, en especial con sus fluidos corporales. Deben usarse guantes y equipos personales de protección para el cuidado de los enfermos. Lavarse las manos regularmente después de visitar a los pacientes en el hospital, así como después de atender a los pacientes en casa.
- Las comunidades afectadas por el Ébola deben informar a la población sobre la naturaleza de la enfermedad y sobre las medidas de contención de brotes, incluyendo durante el ritual de entierro de los fallecidos. Las personas que fallecen por el Ébola deben ser enterradas con rapidez y de forma segura.
- Extremar medidas de bioseguridad en granjas de cerdos, ya que pueden jugar un papel importante en la transmisión del virus, especialmente en la cepa Reston encontrada en Filipinas (Sriram, 2014).

Justificación y objetivos

He escogido este tema para la realización de mi trabajo porque considero que esta es una cuestión de gran actualidad con mucha importancia para la salud pública. Considero que a esta enfermedad no se le da la relevancia que merece al tener mayoritariamente su campo de acción concentrado en países con pocos recursos. A pesar de ello, puede llegar a afectar de forma puntual a países desarrollados siendo motivo de gran alarma social y sanitaria y suscitando controversias en cuanto a las actuaciones realizadas para luchar frente a epidemias potenciales, fruto del desconocimiento y la incertidumbre acerca del comportamiento del virus del Ébola. Además, considero que es importante conocer y profundizar en el papel desempeñado por los animales en relación al virus y su epidemiología y dinámica, para poder conocer mejor su modo de actuación y poder hacerle frente.

Así pues, los objetivos de esta revisión bibliográfica son los siguientes:

- Conocer el virus del Ébola atendiendo a su descripción.
- Conocer el impacto producido por el virus del Ébola en la población humana y animal.
- Averiguar qué especies animales pueden interaccionar con el virus, y la forma en la que pueden verse afectados.
- Valorar el papel que desempeñan los animales en cuanto a la dinámica del virus y la importancia que tienen en relación a la transmisión a la especie humana.

Metodología

Este trabajo se ha realizado en base a una revisión bibliográfica en su mayor parte a partir de artículos científicos adquiridos a través de bases de datos científicas como Pubmed, ScienceDirect, Elsevier, etc. Entre las palabras clave utilizadas en la búsqueda de la información, realizándose la búsqueda en idioma inglés en su mayor parte, cabe destacar: Ébola virus, animals, outbreaks, dog, NHP, chimpances, great apes, fruit bats, pigs, small mammals, transmission, hemorrhagic fever, Ébola en animales, fiebre hemorrágica Ébola, EVE, EVD, FHE, etc. Además, también se han revisado libros especializados en la materia, tanto del archivo de la biblioteca de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza y la municipal de la ciudad de Valencia, como de acceso online.

A partir de estas bases de datos y libros se realizó la búsqueda de la información necesaria, en primer lugar acerca de la descripción del virus del Ébola, tanto su historia como su etiología, patogenia y demás puntos enfocados al conocimiento del virus de forma general. Una vez se tuvo la información necesaria para comprender el virus y su comportamiento, describiéndose especialmente en humanos siendo la especie donde mejor está descrito y en la que se dispone de mayor información, se pasó a la revisión de artículos en busca de cualquier estudio que demostrara la presencia del virus en animales, primero buscando en qué especies animales estaba descrita, seguido de una profundización en cada una de ellas, exponiendo las diferentes evidencias encontradas a lo largo de los años de la interacción del virus con los animales y su papel en la transmisión a los humanos y en la aparición de brotes y epidemias.

Al ser el objeto de estudio principal la relación del virus y los animales en la naturaleza, la búsqueda de artículos se centró principalmente en ello, descartando en un primer momento cualquier artículo e información proveniente de estudios experimentales, dejando para este tema una breve mención en el desarrollo del trabajo.

Resultados y discusión

Animales y el virus del Ébola

El virus del Ébola puede infectar a varias especies animales por métodos naturales o experimentales, pero todavía se está investigando exactamente qué especies animales intervienen en la transmisión de la infección a las personas. Algunos estudios han determinado que la EVE es zoonótica, siendo los murciélagos los posibles reservorios y pudiendo actuar como fuente de infección. También se han detectado anticuerpos frente a una cepa del virus del Ébola, la cepa Reston, en cerdos de criaderos de Filipinas, habiéndose descrito su transmisión de los cerdos a humanos (Gumusova *et al.*, 2015).

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura ha advertido que los brotes de EVE se relacionan con el consumo de carne de murciélago y de mono, y con la manipulación de sus cadáveres. Así, expone que los gorilas y chimpancés podrían ser la principal fuente de infección en humanos. El potencial papel epidemiológico de los perros no se conoce, y los estudios hasta la fecha han revelado que aunque pueden infectarse con EVE, estos no muestran signos clínicos (Gumusova *et al.*, 2015).

A continuación desarrollaremos más en profundidad los estudios y evidencias encontradas de la presencia del virus del Ébola en estas especies animales.

Murciélagos como reservorio

Con más de 1.200 especies, los murciélagos y zorros voladores constituyen el orden más importante y diverso de mamíferos después de los roedores. Sin embargo, a pesar de la

importancia de los murciélagos para las comunidades bióticas terrestres y la ecología de muchos ecosistemas, la diversidad en su biología y estilos de vida siguen siendo poco conocidos. Más de sesenta virus han sido detectados o aislados de los murciélagos, estando estos animales involucrados en los ciclos naturales de muchos de ellos. Este es el caso, por ejemplo, del virus de la rabia, del margubo, y el que a nosotros nos concierne, el Ébola (Callaway, 2016). Por esto, los murciélagos representan un importante riesgo en la salud pública tanto humana como animal. El hecho de que la infección por el virus del Ébola en murciélagos sea asintomática ha sido observado desde hace mucho tiempo, pero el mecanismo de la persistencia del virus todavía no se conoce en profundidad (Rodhain, 2015).

En un experimento llevado a cabo recientemente, que incluyó 24 especies de plantas y 19 vertebrados inoculados con el virus de Ébola, los resultados mostraron que los murciélagos fueron infectados y participaron en el transporte y difusión de la enfermedad (Swanepoel *et al.*, 1996). En concreto, las especies de murciélagos de la fruta como *Franqueti epomops*, *Hypsignathus monstrosus* y *Myonycteris torquata* resultaron portadores del virus sin mostrar ningún signo clínico. Esta teoría es reforzada por instituciones como la Organización Mundial de la Sanidad Animal (OIE, 2014), la que, tras la realización de trabajos de campo y experimentales hallaron también que los murciélagos frugívoros africanos podían diseminar el Virus del Ébola sin mostrar ningún signo clínico, por lo que son sugeridos como reservorio natural de la enfermedad (Passi *et al.*, 2015; Semalulu T *et al.*, 2014).

Numerosos estudios demuestran la relación entre los murciélagos y el comienzo de brotes humanos de Ébola, reforzando la hipótesis de que pueden albergar el virus y ejercer un papel importante en su perpetuación, transmisión a las personas y diseminación. El estudio que se explica a continuación, realizado en la provincia de Kasai, en la República Democrática del Congo (RDC) por un equipo de investigación formado por el Ministerio de Salud de la RDC y la Organización mundial de la Salud (OMS), muestra la relación entre el contacto con los murciélagos y el comienzo de un brote de Ébola. Este estudio se realizó a raíz de la reaparición de un brote de Ébola en esta zona en el año 2007, entre los meses de mayo y noviembre, que afectó a más de 260 personas, causando 186 muertes.

Se llevaron a cabo varias investigaciones epidemiológicas para identificar las condiciones ecológicas y las fuentes animales relacionadas, y se recogieron datos sociales y ambientales cualitativos a través de entrevistas con los aldeanos y mediante la observación directa. Las poblaciones locales no informaron de morbilidad o mortalidad inusual entre los animales salvajes

o domésticos, sino que describieron una migración anual masiva de murciélagos de la fruta hacia el sureste. Los murciélagos se asentaron en la zona del foco durante varias semanas, entre abril y mayo. Estos murciélagos fueron cazados de forma masiva por los aldeanos, para quienes representan una importante fuente de proteínas. Siguiendo de forma retrospectiva los casos de transmisión humano-humano iniciales, fue posible demostrar que, en mayo la primera víctima humana del virus del Ébola había comprado murciélagos recién abatidos a los cazadores para su consumo.

A partir de este estudio fue posible reconstruir la cadena de transmisión humano-humano inicial, proporcionando la secuencia más probable de acontecimientos que vinculan un brote de Ébola humana con la exposición a murciélagos de la fruta, demostrando el papel de éstos como reservorio del virus. Así pues, estos hallazgos apoyan la sospecha del papel de los murciélagos en el ciclo natural del virus de Ébola e indican que las migraciones masivas de los murciélagos de la fruta deben tenerse en cuenta a la hora de evaluar el riesgo de contagio y la aparición de brotes estacionales en la RDC.

Las investigaciones de campo mostraron que los murciélagos presentes que habían realizado la migraciones incluían dos de las tres especies sospechosas de ser el reservorio de EBOVZ: *H. monstrosus* y *E. franqueti*. Los aldeanos informaron de que la población de murciélagos migratorios había sido particularmente masiva en abril de 2007 y, en consecuencia, en abril y mayo los pueblos de la zona fueron literalmente inundados con murciélagos muertos tras haber sido cazados mediante disparos de escopeta, un método que hace que los animales sangren en abundancia. No se tomaron precauciones durante su manipulación, resultando en miles de contactos directos con murciélagos cubiertos de sangre.

No se encontraron signos de morbilidad o mortalidad inusual, pasada o presente, en los murciélagos u otros animales. Los chimpancés y gorilas, que son susceptibles al virus del Ébola y que habían sido las fuentes de varios brotes, no estaban presentes en esta parte de la R.D. del Congo. En su conjunto, la información recogida durante las diferentes encuestas mostró una asociación espacial y temporal fuerte entre la migración del murciélago anual y el brote del Ébola. Sin embargo, todavía no había evidencia de una relación directa entre estos animales y ninguna de las víctimas humanas.

Por ello se realizó un estudio retrospectivo partiendo del caso de una mujer (paciente A) que enfermó alrededor del 25 de junio del 2007 y murió 8 días más tarde. A partir de ella se fue siguiendo retrospectivamente la cadena de contacto hasta intentar llegar al primer caso humano

del que derivaba. Así pues se llegó a relacionar al paciente A con una niña (paciente B) de un pueblo vecino que murió el 16 de junio después de sufrir fiebre y síntomas gastrointestinales como diarrea y vómitos desde el día 12. Al parecer el paciente A, amiga de la familia del paciente B, había participado en el ritual funerario de preparación del cadáver del paciente B, resultando infectada. Al mismo tiempo se relacionó el caso del paciente B con el de su padre (paciente C), quien había sufrido síntomas leves como dolor de cabeza y fiebre a finales del mes de mayo. El paciente C no era cazador, pero había comprado carne de murciélago a los cazadores durante el mes de mayo, demostrando así un contacto murciélago-hombre en un primer caso de un brote de Ébola, a partir del cual se siguió la cadena de transmisión persona a persona (figura 1) (Leroy *et al.*, 2009).

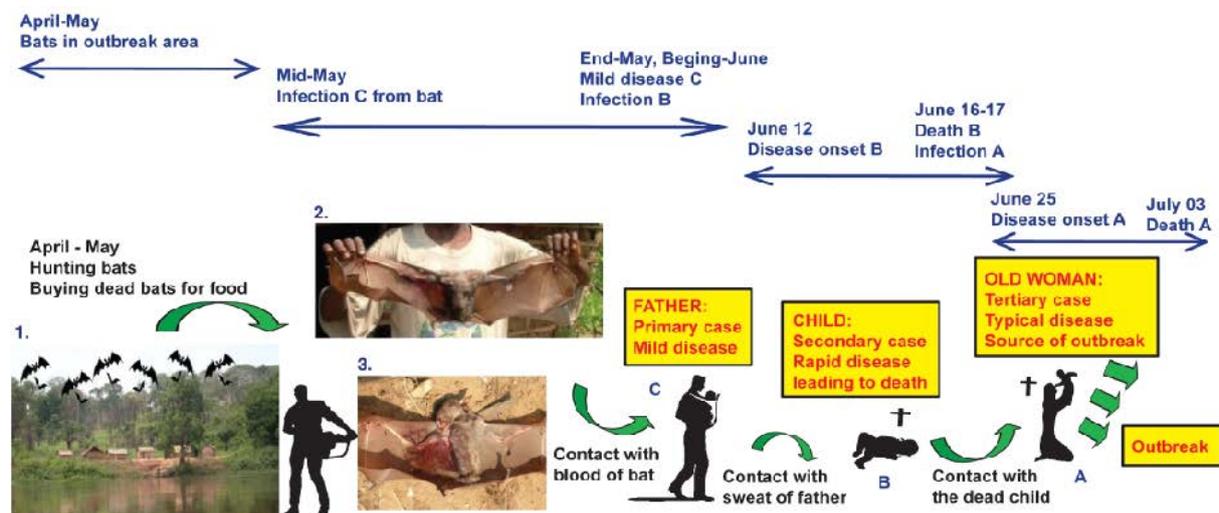


Figura 1. Diagrama esquemático de la cadena de transmisión del virus del ébola desde los murciélagos hasta un caso humano inicial en el brote de 2007 en RDC (Leroy *et al.* 2009).

Además de este estudio, hay otros que demuestran la presencia del virus en el organismo de los murciélagos, como el anteriormente mencionado estudio de Swanepoel *et al.*, 1996. Esta evidencia, junto con los informes de exposiciones de murciélagos de algunos casos primarios de Ébola dirigió la investigación hacia los murciélagos como reservorios potenciales. De hecho, un estudio ecológico reveló la presencia de anticuerpos específicos frente a ZEBOV en seis especies de murciélagos capturados en el campo (Porrut *et al.*, 2005). Paralelamente se realizó otro estudio en Gabón y República Democrática del Congo donde se produjeron brotes de Ébola entre 2001 y 2003 afectando y causando la muerte de un gran número de personas y primates (chimpancés y gorilas). Para realizar este estudio, se capturaron 1030 animales, de los cuales 679 eran murciélagos (Leroy *et al.*, 2005). El 8 % de los murciélagos frugívoros de las especies *Hypsignathus monstrosus*, *Epomops franqueti* y *Myonycteris torquata* presentó anticuerpos frente al subtipo

Zaire (Biek et al., 2006). En el 5 % de los mismos murciélagos se aisló también RNA viral del hígado y bazo, lo que constituye la mayor evidencia hasta la fecha de que estos mamíferos voladores podrían constituir reservorios naturales para el Ébola teniendo en cuenta además que dichos animales, como en el anterior estudio, no mostraban ningún signo de la enfermedad (Arboledas, 2012). Una evidencia que refuerza esta teoría, es la presencia de murciélagos en los alrededores de la mayoría de las zonas de epidemia de Ébola, como fue el caso del brote en 1995 también producido en la RDC, en una zona donde tampoco había ningún tipo de simio pero sí un gran número de murciélagos, aunque no se llegara a documentar ningún contacto directo con estos.

El virus del Ébola en Primates

Desde el descubrimiento del Ébola a partir de los primeros brotes en 1976, los brotes humanos de la enfermedad han sido bien documentados. Algunos de estos no han ocurrido de manera aislada, siendo asociados a epidemias producidas en la vida salvaje cercana, especialmente visible en los grandes primates.

Compartiendo el 98% de nuestro ADN, hay indicios de que los grandes simios son también víctimas del Ébola y muestran prácticamente la misma sintomatología que nosotros. Sin embargo, a diferencia de las epidemias humanas, las epidemias de simios salvajes tienden a pasar desapercibidas durante meses o incluso años (Ball, 2012).

Después de observarse una mortalidad anormalmente elevada de primates en bosques cercanos a zonas donde se habían dado brotes de Ébola en humanos, se realizaron diversos estudios, revelando que los gorilas y chimpancés habían sufrido un brote prolongado de Ébola que causó miles de muertes, y que probablemente el contacto con estos animales habría dado lugar a varias epidemias secundarias en los seres humanos. Se estima que alrededor de un tercio de los chimpancés del mundo han muerto desde 1990, barajándose el Ébola como principal motivo junto a la caza furtiva (Pujol, 2006). Así pues igual que para nosotros, los brotes de Ébola en las poblaciones de primates se dan en forma de epidemia. Es difícil estimar cantidades, ya que son animales muy elusivos, pero se cree que deben quedar alrededor de 100.000 gorilas en estado salvaje. Teniendo en cuenta estos datos, un nuevo brote podría dejar a los gorilas al borde de la extinción (Walsh, 2006; Mileo, 2015).

Además, se ha podido demostrar el contacto primario con un animal salvaje supuestamente

infectado por el virus en varios brotes diferentes de Ébola en humanos, siendo los grandes simios la principal fuente de infección, seguidos por casos documentados de contacto con murciélagos (Ghai, 2014). Exponemos a continuación algunos de los casos documentados de aparición de brotes de Ébola en humanos a partir del contacto con primates (tabla 2):

- El primer brote de Ébola se produjo, casi simultáneamente en 1976 en el Sur de Sudan y al Noroeste de Zaire (la ahora República Democrática del Congo), causados por dos especies antigénica y biológicamente diferentes que fueron llamadas SEBOV y ZEBOV, respectivamente. El primer caso registrado en el brote de RDC fue un hombre de 44 años, profesor misionero en una escuela, quien compró y llevó carne fresca y ahumada de mono a la aldea donde residía, en Yambuku. Fue tratado como enfermo de Malaria en el hospital de Yambuku donde emergió el brote consecuentemente. En total se registraron 318 casos, con una mortalidad del 88% (Muyembe-Tamfum *et al.*, 2012).
- Costa de Marfil (1992-1994): Entre 1992 y 1994 se produjeron en dos oleadas un número de fallecimientos bastante anómalo en un grupo de chimpancés del Parque Nacional Tai, al oeste de Costa de Marfil. Estos primates llevaban bajo estudio quince años y ya en 1987 el grupo estaba censado en 80 ejemplares. En noviembre de 1993 murieron 8 ejemplares en un pequeño espacio de tiempo y en noviembre de 1994 se produjeron otros 12 fallecimientos. Algunos chimpancés presentaban signos evidentes de hemorragias. El 16 de noviembre de 1994 fue descubierto un ejemplar que acababa de fallecer. Sobre el mismo terreno una de las científicas efectuó la necropsia. La zoóloga suiza que llevó a cabo la necropsia del animal comenzó a sufrir un síndrome caracterizado por fiebre alta, escalofríos, dolor de cabeza, vómitos, diarrea y dolor abdominal. Las muestras de sangre se analizaron para la detección de antígenos de los principales virus causantes de las fiebres hemorrágicas. Finalmente dieron resultados positivos frente a Ébola por inmunofluorescencia, y pudo comprobarse la existencia de un nuevo subtipo del virus, que fue llamado Ébola Costa de Marfil (Formenty *et al.*, 1999; Arboledas, 2012).
- Gabón (1994-1995): Grandes brotes de fiebre hemorrágica causada por ZEBOV, fueron asociadas con la caza de primates. El brote de 1994 afectó a buscadores de oro, quienes presuntamente habían cazado un gorila enfermo y se habían alimentado de su carne. La enfermedad se confundió en un inicio con fiebre amarilla pero posteriormente se descubrió que había sido producida por el virus Ébola Zaire (Amblard *et al.*, 1997; Gerogers-Courbot *et al.*, 1997; Leroy *et al.*, 2004; Muyembe-Tamfum *et al.*, 2012)

- Gabón y RDC (2001): Todos los miembros de una misma familia habían fallecido en un periodo de tres semanas tras un cuadro caracterizado por fiebre alta y diarrea sangrante. A partir de las muestras tomadas de los pacientes, finalmente se identificó el virus del Ébola subtipo Zaire como responsable de la epidemia. Los estudios epidemiológicos posteriores identificaron el primer caso de fiebre hemorrágica en un cazador que probablemente se infectó durante una cacería de monos. Varios gorilas, chimpancés y otros primates habían aparecido muertos en la zona boscosa del mismo distrito durante el mismo mes. Dada la gran movilidad de la población de Gabón y RDC a través de la frontera, las infecciones se distribuyeron de forma más o menos equitativa a ambos lados: 65 en Gabón y 59 en la República del Congo. Hay evidencias epidemiológicas de que al menos hubo seis casos primarios, todos ellos relacionados con la caza de simios, 4 en Gabón y 2 en el Congo, produciéndose la mayoría de casos secundarios posteriores por contacto persona a persona.
- Gabón (2002-2003): Volvió a reaparecer con gran virulencia en el oeste de Gabón. Se contabilizaron 143 casos de contagio por ZEBOV de los que resultaron fatales el 90%. Parece ser que fueron tres los casos primarios, cazadores que habían entrado en contacto con gorilas y antílopes. El resto de contagios fue consecuencia de contacto directo con infectados.

Al observarse que muchos de los brotes del virus de Ébola durante 2001-2003 en la zona de bosque entre Gabón y RDC fueron resultado de la manipulación de cadáveres de animales salvajes infectados (especialmente primates), después del primer brote se creó una red de vigilancia de mortalidad animal con la colaboración de los ministerios congoleño y gabonés de Medio Ambiente y organizaciones de fauna salvaje, para predecir y prevenir posibles brotes de Ébola humanos. Desde agosto de 2001, 98 cadáveres de animales han sido recuperados por la red, incluyendo 64 grandes simios. Tras el análisis de 21 cadáveres se encontró que 10 gorilas y 3 chimpancés testados fueron positivos a Ébola. Los brotes de Ébola en animales salvajes comenzaron antes de los 5 brotes humanos producidos en estas zonas. Se pudo alertar así en dos ocasiones a las autoridades sanitarias de un inminente riesgo de brotes humanos, semanas antes de que estos ocurrieran.

- Uganda (2007): Ministerio de Sanidad ugandés recibió un informe en el que se recogía la muerte de 20 personas, en lo que parecía ser un nuevo brote de fiebre hemorrágica. Después de realizar las pruebas necesarias, se descubrió que se trataba de un nuevo subtipo de Ébola hasta entonces desconocido, al que llamaron Bundibugyo. 149 personas habían sido infectadas con el nuevo subtipo, de las cuales fallecieron 37. Los estudios

epidemiológicos posteriores mostraron que la paciente cero fue una mujer de 26 años, quien falleció, y poco después otros 6 miembros de su familia próxima. Durante el registro de su casa se encontraron aperos de caza, lo cual podría relacionar este brote con la posible caza de primates o alguna otra especie animal.

- Reston, EEUU (1989): en 1989 se descubrió la cepa Reston del virus del Ébola, en la localidad de Reston, Virginia (Estados Unidos), en un grupo de 100 macacos que fueron importados desde Filipinas. Estos macacos padecían síntomas similares al de la fiebre hemorrágica viral. A partir de entonces, se produjeron dos brotes más, el primero en 1992-1993 y el siguiente en el año 1996. El primer brote en 1989 reveló que el antígeno del REBOV fue positivo en el 53% de las 161 muertes de los primates realizadas, con una tasa de letalidad del 82%. El siguiente brote se produjo en instalaciones de cuarentena de primates en Siena, Italia. Los monos infectados procedían de la misma granja de filipinas y del mismo exportador. Por último, en 1996 volvieron a aparecer monos infectados en EEUU provenientes de Filipinas. En este brote, tres monos de 1732 analizados tenían anticuerpos detectables, y 132 de 1011 monos muertos, moribundos o enfermos fueron antígeno positivos. Además uno de los 251 cuidadores de animales tenía anticuerpos frente al Ébola pero ninguno de los 251 empleados de las instalaciones reportaron síntomas de enfermedad compatible con Ébola (Ikegami *et al.*, 2002; Ikegami *et al.*, 2002; Miranda *et al.*, 2011).

AÑO	LUGAR	CEPA	TIPO CONTACTO
1976	R.D. Congo	SEBOV – ZEBOV	Ingestión carne
1992-94	Costa de Marfil	CEBOV	Contacto con cadáver de primate
1994-95	Gabón	ZEBOV	Caza e ingesta de primate
2001	Gabón – R.D.C.	ZEBOV	Caza de primates
2002-03	Gabón	ZEBOV	Caza de gorilas
2007	Uganda	BEBOV	Caza de primates
1989	Reston	REBOV	Contacto con macacos

Tabla 2. Resumen esquemático de los diferentes brotes de Ébola relacionados con primates.

A pesar de que se supuso que los primates no humanos podrían actuar como reservorio del virus al estar éstos implicados en el comienzo de varios brotes de fiebre hemorrágica por Ébola, el hecho de que la mayoría de las especies de simios no sobrevivan a la misma hace poco probable que sean sus auténticos reservorios, aunque jueguen algún papel en la ecología del virus. Lo más sencillo es que, como ocurre con los humanos, se vean accidentalmente infectados (Arboledas, 2012; Rouquet *et al.*, 2005).

Cerdos y la cepa Reston

Se ha demostrado que los cerdos pueden ser infectados por la cepa Zaire del Ébola solo en condiciones experimentales, pero no se dan casos de forma natural. Únicamente en Filipinas se encontraron evidencias de que podrían ser infectados por la cepa Reston, aunque no está claro si desarrollan signos ya que la gran mayoría estaban enfermos también por PRRS, y tras la infección experimental por esta cepa no presentaban signos clínicos (CDC, 2016).

La cepa Reston se diferencia del resto de filovirus conocidos por varias características. En primer lugar, es el único que tiene origen asiático, siendo el primer caso informado con origen en Filipinas, frente al origen africano del resto de cepas. Además, hay indicios que demuestran que es la única especie del virus Ébola que puede ser transmitida por vía aerógena mediante partículas y aerosoles (FAO, 2008). Y por último, la diferencia más notable es que a pesar de que puede infectar a seres humanos, la infección por esta cepa es infrecuente y no se ha demostrado que produzca ningún tipo de sintomatología (ECDPC, 2009). Además de todo esto, es la única cepa que se ha visto que pueda infectar de forma natural a la especie porcina, cursando aparentemente sin sintomatología. Así pues, hasta 2008 REBOV solo se había aislado en simios, como ya hemos apuntado anteriormente, y en 6 personas en contacto con ellos. Sin embargo, en octubre de 2008 se confirmó por primera vez la infección de cerdos en dos granjas de Filipinas (Weingartl *et al.*, 2012).

Al producirse un aumento en la mortalidad en cerdos de las provincias filipinas de Pangasinan y Bulacan del 5 al 20%, se tomaron muestras de los cerdos afectados y se analizaron en el laboratorio de referencia Foreign Animal Disease Diagnostic Laboratory (FADDI) en Pum Island, Nueva York. Tras ser analizadas las muestras, se identificaron varios patógenos presentes en ellas, entre los que se encontraban una cepa de PRRS atípica, circovirus tipo 2, e inesperadamente REBOV. Posteriormente la infección por REBOV fue confirmada en los laboratorios del CDC (Centers for Disease Control), donde se realizó la secuenciación del virus que resultó ser muy similar a los brotes causados en 1989 en simios.

Hasta el momento, únicamente se han visto afectadas dos granjas de cerdos localizadas en las provincias de Pangasinan y Bulacan. Sin embargo, en Filipinas hay más de 14 millones de cerdos censados, entre los cuales podría haber muchos más animales afectados. Del total de 160 muestras positivas a anticuerpos, 133 procedían de Bulacan y las 27 restantes de la granja de Pangasinan. En esta última granja todas las muestras pertenecían a madres reproductoras, menos

una correspondiente a un lechón. Sin embargo, en dicha granja no fue posible la detección del virus en ningún individuo, dando los resultados de la RT-PCR negativos en todos los casos. El 83% de muestras con serología positiva procedían de la granja de Bulacan y provenían de animales en todas las fases de producción, resultando 19 de estas muestras positivas a RT-PCR correspondientes a lechones y destetados. En este brote de REBOV en ganado porcino, de un total de 147 personas analizadas seis de ellas presentaron anticuerpos (IgG) frente al antígeno viral, sin resultar ninguna de ellas positiva a la RT-PCR. Estas personas trabajaban en las granjas afectadas (Bulacan y Pangasinan) y en los mataderos de Pangasinan y Cabatunan.

Respecto a la potencial fuente de infección primaria y reservorio del virus, se estudió la localización de las granjas afectadas y la distancia existente con los brotes de monos en los años 90. Todos los brotes ocurridos en Estados Unidos e Italia excepto uno, fruto del comercio ilegal de animales, tuvieron su origen en el envío de monos procedentes de un centro de cría localizado en Calamba, Laguna en las Islas Filipinas. Este fue el único centro de cría de monos en el que se confirmó la transmisión activa del virus con presencia de antígeno (Miranda *et al.*, 2011).

La afección del ganado porcino por el virus Ébola-Reston supone una alarma sanitaria de gran importancia que ha puesto en alerta a todos los organismos sanitarios internacionales, tal y como demuestra la creación de una comisión especial de asesoramiento formada por representantes del Departamento de Agricultura y Salud de Manila, la Organización Mundial de la Salud (OMS), Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) y los Centros Estadounidenses para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC). Sin embargo, el descubrimiento del virus en esta especie se ha dado de una forma más bien casual, durante el estudio de un aumento de mortalidad y enfermedad en cerdos de granjas filipinas, en las que se observaron otras enfermedades concomitantes como PRRS y circovirus porcino tipo 2. Podría suceder que los cerdos llevasen un tiempo infectados por REBOV sin haber presentado signos, y que la infección no se haya descubierto hasta este momento. Si esto fuese así, cabría la posibilidad de la existencia de más granjas afectadas, siendo los animales asintomáticos. Para conocer las verdaderas dimensiones del problema sería necesario llevar a cabo chequeos serológicos entre la población porcina que nos permitan diferenciar entre un contagio puntual en cerdos de dos granjas, o un afectación más o menos importante de toda la cabaña (Mur *et al.*, 2009).

No obstante, existen diferencias entre la presentación de la enfermedad en las dos granjas. Mientras que en Bulacan se detectaron anticuerpos y antígeno viral en todas las fases de

producción, en Pangasinan únicamente se detectaron anticuerpos en cerdas reproductoras y un lechón, con ausencia de antígeno viral. Esto demuestra que los animales en Pangasinan habían estado en contacto previo con el virus, si bien en este momento no se encuentra circulando en la explotación y la transmisión parece estacionada, tratándose en este caso de una infección más antigua.

Sin embargo, en Bulacan, la detección del antígeno viral implica la existencia de transmisión viral reciente entre cerdos de dicha granja, ya que la detección de antígeno sólo es posible durante la fase aguda de la infección (CDC, 2009). En esta granja, se realizó el sacrificio sanitario de toda la población (6000 cerdos) por parte de las autoridades filipinas a principios de marzo de 2009, con el fin de detener la expansión del virus y evitar posibles contagios a granjas cercanas. La presencia de anticuerpos en seis personas que estuvieron en contacto con los cerdos afectados podría indicar la existencia de transmisión del cerdo al humano (Marsh *et al.*, 2011). Sin embargo, la presencia de anticuerpos y ausencia de antígeno viral en humanos demuestra que se trata de una infección antigua, y por lo tanto estas personas se podrían haber infectado directamente a partir del reservorio del virus e incluso haber podido actuar como fuente de infección para los cerdos, en los que la detección de antígeno viral demuestra una infección más reciente. No obstante, es necesario aclarar la posibilidad de transmisión de Ébola-Reston del cerdo a humano, con el fin de tomar las medidas de precaución y control necesarias para evitar futuros contagios en las personas (Barrete *et al.*, 2016; Mur *et al.*, 2009)

Evidencias del virus en perros

Al pensar en la relación entre el virus del Ébola y los perros, seguramente nos venga a la cabeza el reciente y polémico caso del perro Excalibur, mascota de la auxiliar de enfermera Teresa Romero, quien fue contagiada de Ébola en España en el año 2014 tras atender a un misionero contagiado con el virus. Se produjo una gran polémica sobre la decisión de llevar a cabo, o no, el sacrificio del animal, considerándolo una potencial fuente de contagio y consiguiente riesgo para la salud pública. Finalmente, se tomó la decisión de sacrificar al animal como medida preventiva para no asumir riesgos ante el posible contagio, aún sin conocer el papel que juegan los perros en relación con el virus. En el mismo año, se dio igualmente un caso humano en EEUU en una trabajadora de la salud en Texas. Ésta también tenía un perro, pero la actuación frente a la situación fue diferente por parte de las autoridades, dejando al animal en cuarentena hasta asegurarse de que no suponía un peligro de contagio.

Para arrojar un poco más de luz sobre la relación del virus del Ébola y los perros, a continuación se procede a revisar un estudio realizado por el experto Eric Leroy y su equipo, publicado en 2005 sobre el virus del Ébola en perros.

En algunos casos de los últimos brotes de Ébola, no se pudo documentar que se diera una exposición previa a ninguna fuente del virus. Así, 14 (4,9%) de los 284 casos en el brote de Sudan en 1976 y 55 (17,4%) de los 316 casos durante la epidemia de 1995 en Kikwit, República Democrática del Congo (RDC, ex Zaire), no tuvieron ningún contacto físico directo con una persona infectada o con cadáveres de animales infectados conocidos, analizando como principales sospechosos simios y murciélagos. Estas observaciones apuntan bien a otras vías de transmisión o bien puede sugerir que otro animal, sin haber sido identificado como fuente de infección potencial, puede estar implicado en la transmisión del virus del Ébola a los seres humanos.

Es frecuente que en zonas en las que el Ébola está presente se tengan a perros como mascotas que no están bien alimentados, por lo que tienen que buscar su propia comida, ingiriendo pequeños cadáveres de animales muertos u órganos de animales que han sido cazados, teniendo en cuenta además que algunos perros también son usados para la caza en estas zonas. El experto Leroy y su equipo pretendieron así estudiar si los perros podrían haber sido infectados por el virus de Ébola y cuál podría ser su papel en la transmisión a humanos. Por ello llevaron a cabo un estudio serológico a gran escala para determinar la prevalencia de infección por el virus de Ébola en perros de compañía en una zona de epidemia de Ébola en Gabón.

Para realizar el estudio, se llevó a cabo la toma de muestras de sangre de un total de 439 perros, y se analizó la presencia de IgG específicas frente al virus del Ébola mediante la técnica ELISA. Las muestras se tomaron en diferentes ciudades y aldeas de Gabón, después de producirse allí brotes entre 2001-2002. Se tomaron muestras tanto en las ciudades principales (Libreville y Port Gentil), en Mekambo y en aldeas dentro de la zona de epidemia del virus, siendo las ciudades principales las más alejadas de los focos de epidemia, seguidas por Mekambo. También se tomaron muestras de perros de Francia para tener un grupo control. Además de esto, se dividieron los resultados de los análisis realizados teniendo en cuenta si las muestras fueron tomadas en zonas con casos humanos o sin ellos, o con la presencia de fuentes animales de infección o sin ellas. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Zona de Muestreo	Número Muestras	Muestras Positivas	Prevalencia
Francia	102	2	2.0%
Ciudades principales Gabón (Libreville y Port Gentil)	79	7	8.9%
Mekambo	99	15	15.2%
Zonas de epidemia	159	40	25.2%
Sin casos humanos de Ébola	67	15	22.4%
Con casos humanos de Ébola	92	25	27.2%
Sin fuentes de infección animal	26	4	15.4%
Con fuentes de infección animal	66	21	31.9%

Tabla 3. Prevalencia del virus del Ébola en perros obtenida en las diferentes zonas de muestreo (Leroy *et al.* 2005).

Analizando estos resultados, se observó que, conforme a lo esperado, la tasa de seroprevalencia fue significativamente inferior en Francia (atribuyéndose a falsos positivos), que en cualquiera de las zonas de Gabón. También se pudo ver que la seroprevalencia era más baja en las ciudades principales (8.9%), que en Mekambo (15.2%) y a su vez, inferior a la de las aldeas localizadas en la zona de epidemia del Ébola, con un 25.2%. Esto demuestra una significativa tendencia de crecimiento positivo lineal, desde las zonas más alejadas del área de epidemia del Ébola, a las más cercanas (Figura 2).

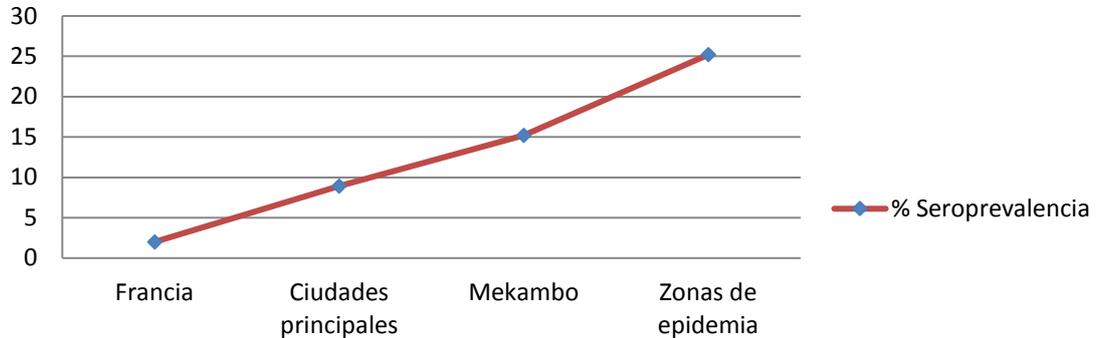


Figura 2. Representación gráfica de la tendencia de la seroprevalencia en las diferentes zonas muestreadas.

Además, también se pudo observar la tendencia al aumento de la seroprevalencia en las zonas donde hay casos humanos, así como en las zonas donde hay alguna fuente de infección animal. Así pues, las zonas con mayor seroprevalencia son las que encontramos tanto casos humanos como fuentes de infección animales, siendo del 31,8% (Figura 3 y 4).

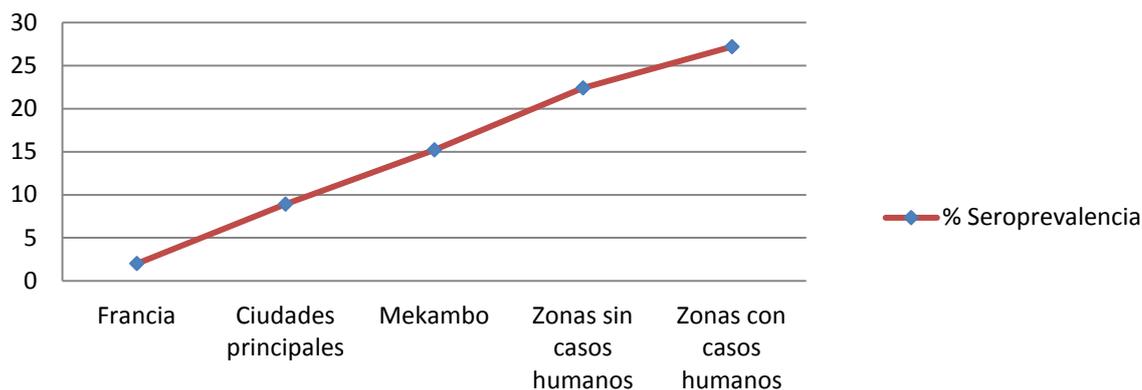


Figura 3. Representación gráfica de la tendencia de la seroprevalencia en las diferentes zonas muestreadas.

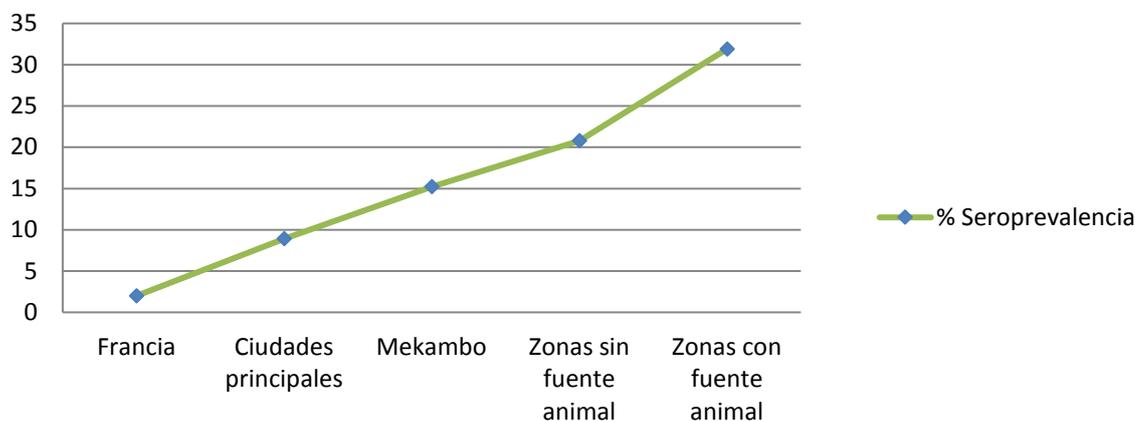


Figura 4. Representación gráfica de la tendencia de la seroprevalencia en las diferentes zonas muestreadas.

El hallazgo de la presencia de anticuerpos de perros sugiere que pueden ser infectados por el virus del Ébola y que algunos perros que vivían en zonas endémicas del virus fueron infectados durante el brote de 2001-2002. No se encontraron antígenos ni secuencias de ADN vírica (testado por PCR) circulantes en ninguna de las muestras, y los intentos de aislar el virus fueron fallidos. Esto puede atribuirse tanto a una antigua infección transitoria de los perros testados, como a una estimulación antigénica. Se observó también que no se desarrollaron signos clínicos en ninguno de estos animales expuestos, un hallazgo que tiende a apoyar la estimulación antigénica, asintomática, o una muy leve infección por el virus del Ébola. De este modo, los perros parecen ser una especie animal que han demostrado ser natural y asintóticamente infectada por el virus del Ébola y capaces de desarrollar una respuesta inmune frente a él.

Así pues, a partir de este estudio se expusieron una serie de hipótesis que cabría tener en cuenta:

- Aunque los perros puedan ser asintómicamente infectados, podrían excretar partículas virales por la orina, las heces, la saliva, o la sangre, por un breve periodo de tiempo antes de la eliminación completa del virus.
- Dada la frecuencia del contacto entre humanos y perros domésticos, la infección canina del Ébola puede ser considerada como un factor de riesgo potencial para los humanos y propagación del virus, especialmente en las zonas donde el virus está presente.
- La infección en humanos podría ocurrir al ser lamidos, por mordiscos o por falta de higiene de las personas que están en contacto con perros.

Los perros infectados podrían ser una fuente potencial de brotes de Ébola en humanos, pudiendo tener un papel importante en la propagación del virus durante los brotes, que podrían explicar algunos casos humanos no relacionados epidemiológicamente con ninguna fuente conocida del virus (Allela *et al.*, 2005; Leroy *et al.*, 2005).

En conjunto, estos hallazgos sugieren que los perros deben ser tomados en consideración durante la gestión de los brotes de Ébola. Para confirmar el potencial de riesgo que suponen los perros infectados de Ébola para los humanos, debería ser investigado el mecanismo de excreción viral mediante su infección experimental en condiciones controladas (Allela *et al.*, 2005), ya que aunque se haya demostrado que pueden desarrollar una respuesta inmunológica frente al virus, no hay pruebas de que puedan eliminarlo (AVEPA, 2014).

También cabe destacar que las tasas de seroprevalencia en Libeville y Port Gentil, las 2 principales ciudades de Gabón, fueron significativamente mayores que la observada en Francia, lo que sugiere la estimulación antigénica aún sin haber sido observados casos de Ébola en estas zonas. Las investigaciones epidemiológicas muestran que la mayoría de perros seropositivos en Libreville y Port Gentil probablemente nunca han contactado con una fuente de infección conocida, y que nunca han visitado las áreas de epidemia de Ébola, en teoría descartando una verdadera infección. Esto sugiere la presencia de otras vías de contacto con los antígenos virales libres, como aerógena o, en menor medida, por la exposición conjuntival a gotas cargadas con el virus. Por otra parte, también podría sugerir que estos animales podrían vivir en contacto cercano con reservorios todavía desconocidos.

Otro resultado reseñable de este estudio es el significativo incremento de seroprevalencia canina desde las zonas libres del virus hasta las áreas de epidemia de Ébola, incluyendo zonas con y sin casos humanos. Estos hallazgos sugieren que la seroprevalencia canina podría reflejar el contacto con el virus y, por lo tanto, la actividad de este en un área dada y el riesgo de la infección humana. Por consiguiente, la tasa de seroprevalencia en perros podría servir como un indicador epidemiológico de circulación del virus en regiones donde no haya casos de animales muertos o enfermos, o no se hayan observado casos humanos y no haya disponibles otros medios de detección del virus (Leroy *et al.*, 2005).

En conclusión, este estudio podría ofrecer la primera evidencia de que los perros pueden ser infectados asintómicamente por el virus del Ébola en la naturaleza. Este hallazgo tiene implicaciones potenciales para la prevención y control de brotes humanos (Allela *et al.*, 2005), aunque sería conveniente diferenciar el modo de actuación sobre los perros en países y zonas endémicas del Ébola, donde las condiciones higiénicas son pobres y los perros pueden sufrir mayores eventos de contacto con animales infectados y fuentes de contagio, y países desarrollados libres del virus, con mayor nivel higiénico y donde el contacto entre perros y fuentes de infección pueden ser muy puntuales y probablemente insuficientes como para lograr infectarse y eliminar el virus (AVEPA, 2014).

El Ébola en otros animales

Otra cuestión que se ha planteado es si los mosquitos o cualquier otro tipo de artrópodo pueden actuar como vectores en la transmisión del virus, o si los pequeños mamíferos como los roedores pueden verse también afectados. Para esclarecer estas cuestiones se hicieron varios estudios durante diferentes brotes muestreando un gran número de animales.

Tras el doble episodio por Ébola en Zaire y Sudán en 1976 los científicos recogieron en ambas zonas más de 800 especies de chinches y 147 de mamíferos para conocer si alguna era portadora del Ébola. Los resultados fueron, no obstante, negativos. En otro amplio estudio de campo entre 1979 y 1980, los científicos capturaron en Camerún y en Zaire 1.664 animales, casi todos pequeños roedores. Ninguno resultó ser portador del Ébola o del Marburgo (Morvan *et al.*, 1999).

Tras el brote de 1995 en Kikwit, República Democrática del Congo, se llevó a cabo la mayor encuesta realizada hasta la fecha para esclarecer dónde se refugia el virus entre brotes. Se atraparon y/o compraron a los cazadores un total de 3.066 especímenes en seis zonas distintas. La mayor parte de los animales eran pequeños mamíferos, aunque también se recogieron aves, anfibios y reptiles. Junto a ellos se atraparon un total de 34.000 artrópodos entre mosquitos, chinches y garrapatas. Tras analizar uno a uno los casi 40.000 especímenes, no fue posible aislar resto alguno del virus ni evidencia serológica de infección previa. Tampoco en ninguno de los numerosos experimentos en los que se inoculó ex profeso el virus en las especies de mosquitos que transmiten enfermedades provocadas por arbovirus se ha observado replicación alguna del virus Ébola. Hasta la fecha, ningún artrópodo ha podido ser identificado como posible reservorio viral (Arboledas, 2012).

También se han llegado a proponer los puercoespines o los diuqueros (antílopes africanos) como posibles hospedadores del virus pero los estudios realizados en ellos no son muy extensos y son poco determinantes.

EVE en modelos animales

Los modelos animales son importantes para la comprensión de la patogénesis, autorización de nuevos medicamentos y vacunas, y para el diseño de medidas de control eficaces frente a EVE. Se han utilizado modelos en primates, ratones, cobayas y hámsters dorados de Siria para la evaluación de la EVE, de los que cabe destacar los siguientes:

- En los modelos con primates se observa que presentan síntomas similares a los humanos, incluyendo hemorragia y shock, siendo estos el estándar ideal para el estudio de la patogénesis de EVE. Sin embargo, el coste y los problemas éticos y de manejo limitan su uso a gran escala para utilizarlos en los estudios.
- Los modelos con ratones han sido también utilizados, adaptándose el virus salvaje a través de pases secuenciales, detectándose antígenos del virus del Ébola en bazo y hepatocitos. Sin embargo los signos clínicos, incluyendo fiebre y erupción cutánea, y los signos hemodinámicos tales como la coagulación intravascular diseminada (CID), la prolongación del tiempo de protrombina (PT) y el tiempo de tromboplastina parcial (aPTT), no se observaron en éstos.

- También los conejillos de indias han sido infectados con ZEBOV por pases secuenciales, presentando signos como fiebre, anorexia, deshidratación, y prolongación progresiva del PT y aPTT, pero no se observan signos de erupción.
- En los modelos de hámster sirio dorado infectados con EVE adaptada a ratón, presentan los signos más similares de EVE a los seres humanos y primates. Por esta razón, se ha utilizado para el estudio de las intervenciones frente a EVE. El modelo de hámster recién desarrollado se utiliza para confirmar la eficacia de fármacos en primates, para controlar la coagulopatía, y probablemente reemplazará a los ratones y conejillos de indias como modelo alternativo para estudios de patogénesis y pruebas de eficacia de tratamientos (Gumusova *et al.*, 2015).

Conclusiones

- Los animales realizan un importante papel en la cadena epidemiológica del virus del Ébola, siendo potenciales fuentes de infección para la especie humana, actuando como transmisores de la enfermedad y siendo el origen primario de un gran número de brotes.
- Las medidas preventivas y de lucha frente a los brotes y epidemias de Ébola deben tener las bases en el papel desempeñado por los animales en la cadena de transmisión, siendo las principales medidas a tomar la educación de la población y concienciación sobre la necesidad de medidas higiénicas, y la restricción del contacto con estos animales.
- El virus del Ébola tiene un gran impacto dentro de las poblaciones animales, siendo necesario impedir su propagación dentro de ellas para así poner fin a epidemias animales y la consecuente disminución de sus poblaciones, especialmente en el caso de los primates.
- Es necesario un conocimiento más amplio del comportamiento del virus en los animales y del papel que estos desempeñan en su cadena epidemiológica, así como la necesidad de seguir realizando estudios sobre otras especies animales que puedan participar en su ciclo y constituir una fuente de peligro.

Conclusions

- Animals play an important role in the epidemiological chain of the Ebola virus, being potential sources of infection for the human species, acting as transmitters of the disease and being the primary source of a large number of outbreaks.
- Preventive and control measures against outbreaks and epidemics of Ebola should be based on the role played by the animals in the chain of transmission, being the main

measures to educate and aware the population about the need for hygiene measures, and the restriction of contact with those animals.

- The Ebola virus has a great impact on the animal populations, being necessary to prevent their propagation to end animal epidemics and the consequent decrease of their populations, t especially in the case of the primates.
- A thorough knowledge of the behaviour of the virus in animals and the role they play in their epidemiological chain is needed, as well as to continue carrying out studies on other animal species that may participate in its cycle and may constitute a source of danger.

Valoración personal

Mediante la realización de este trabajo he podido aprender a utilizar distintas bases de datos científicas para saber dónde y cómo realizar una búsqueda bibliográfica científica, lo que sin duda tendrá gran importancia en el desarrollo futuro de mi profesión. Además he aprendido cómo redactar y estructurar un texto científico, siguiendo las distintas premisas necesarias para su realización.

Además me ha ayudado a conocer más a fondo el virus del Ébola, así como a saber qué animales pueden verse afectados por él, el papel que tienen con respecto a su transmisión y su importancia en la aparición de brotes en humanos, lo cual considero que es de vital importancia si se le quiere hacer frente y ponerle fin.

Finalmente, agradecer a Cristina Acín y a José Luis Pitarch por orientarme en la realización del trabajo y su disposición y ayuda en las consultas realizadas.

Bibliografía

Allela L, Leroy EM, Bourry O, Pouillot R, Délicat A, Yaba P, Kumulungui B, Rouquet P, Gonzalez JP, Leroy EM. Ebola Virus Antibody Prevalence in Dogs and Human Risk. *Emerging Infectious Diseases*. 2005; 11(3):385-390.

Arboledas D. Fiebre hemorrágica por Ebola. Editorial Club Universitario. 2012; 5ª ed.

Ball J. What Ebola virus means for primate populations. *Nature*. 2012; 74:33-35.

Biek R, Walsh PD, Leroy E, Real LA. Recent common ancestry of Ebola Zaire virus found in a bat reservoir. *Plos Pathogens*. 2006; 2(10):e90.

Callaway E. Ebola hunters go after viral hideout. *Nature*. 2016; 529:138-139.

EFSA (European Food Safety Authority). Risk related to household pets in contact with Ebola cases in humans. *EFSA Journal*. 2014; 12(11):3930.

European Centre for Disease Prevention and Control, Stockholm. Ebola Reston virus detected pigs in the philippines. 2009; 14

Formenty P, Boesch C, Wyers M, Steiner C, Donati F, Dind F, Walker F, Le Guenno B. Ebola virus outbreak among wild chimpanzees living in a rain forest of Côte d'Ivoire. *Journal of Infectious Disease*. 1999; 179:120-126

Gumusova S, Sunbul M, Leblebicioglu H. Ebola virus disease and the veterinary perspective. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2015; 14:30.

Ghai R. Ebola: outbreaks cause for great apes and humans. *Nature*. 2014; 13:22-24

Ikegami T, Miranda ME, Calaor AB, Manalo DL, Miranda NJ, Niikura M, Saijo M, Une Y, Nomura Y, Kurane I, Ksiazek TG, Yoshikawa Y, Morikawa S. Histopathology of natural Ebola virus subtype Reston infection in *Cynomolgus* Macaque during the Philippine outbreak in 1996. *Experimental Animals*. 2002; 31(3):447-455.

Leroy E, Rouquet P, Formanty P, Souquiere S, Kilbouma A, Formant JM, Bermejo M, Smit S, Karesh W, Swanepoel R, Zaki SR, Rollin PE. Multiple ebola virus transmission events and rapid decline of central African wildfire. *Science*. 2004; 303(5656):387-390.

Leroy E, Kumulungui B, Pourrut X, Rouquet P, Hassanin A, Yaba P, Délicat A, Paweska JT, Gonzalez JP, Swanepoel R. Fruit bats as reservoirs of Ebola virus. *Nature*. 2005; 438(7068):575-576.

Leroy E, Epelboin A, Mondonge V, Pourrut X, Gonzalez JP, Muyembe-Tamfum JJ, Formenty P. Human Ebola outbreak resulting from direct exposure to fruit bats in Luebo, Democratic Republic of Congo, 2007. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*. 2009; 9(6):223-228.

Lugones M, Ramirez M. *Virus del Ebola*. Scielo. 2014; 30:487-497

Marsh G, Haining J, Robinson R, Foord A, Yamada M, Barr J, Payne J, White J, Yu M, Bingham J, Rollin PE, Nichol ST, Wang LF, Middleton D. Ebola Reston virus infection of pigs: clinical significance and transmission potential. *Journal of Infectious Diseases*. 2011; 204:804-808.

Mileo A. Ebola y primates. *Sustentator*. 2015; 3:34-36.

Miranda ME, Miranda NL. Reston ebolavirus in humans and animals in the Philippines: a review. *Journal of Infectious Diseases*. 2011; 204: 757–760.

Morvan JM, Deubel V, Gounon P, Nakoune E, Barriere P, Murri S, Perpete O, Selekon B, Coudrier D, Gautier-Hion A, Colyn M, Volehkov V. Identification of Ebola virus sequences present as RNA or DNA in organs of terrestrial small mammals of the Central African Republic. *Microbes Infections*. 1999; 1(14):193-201.

Mur L, Martinez B, Sanchez JM. Virus Ebola-Reston. ¿El cerdo un nuevo hospedador? / Ebola-Reston virus. Pig a new host? *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*. 2009; 2:159-166.

Muyembe-Tamfum JJ, Mulangu S, Masumu J, Kayembele JM, Kemps A, Paweka JT. Ebola virus outbreaks in Africa: past and present. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. 2012; 79 (2):451.

Office international des Epizooties (OIE). Ebola Virus Disease. 2015. http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Media_Center/docs/pdf/Disease_cards/Ebola_fact_sheet_EN_Final.pdf (19 Nov 2016)

Passi D, Sharma S, Dutta SR, Dudeja P, Sharma V. Ebola virus disease (The Killer Virus): another threat to humans and bioterrorism: brief review and recent updates. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2015; 9(6): LE01-LE08.

Pujol FH. Virus en primates no humanos: zoonosis, artroponosis y biodiversidad. *Scielo*. 2006; 31.

Rewar S, Mirdha D. Transmission of Ebola virus disease: an overview. *Annals of Global Health* 2014; 80(6):444-451.

Rodhain F. Bats and Viruses: complex relationships. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*. 2015; 108(4):272-289.

Rouquet P, Froment JM, Bermejo M, Kilbourn A, Karesh W, Reed P, Kumulungui B, Yaba P, Délicat A, Rollin PE, Leroy EM. Wild animal mortality monitoring and human Ebola outbreaks, Gabon and Republic of Congo, 2001–2003. *Emerging Infectious Diseases*. 2005; 11(2):283-290.

Sriram N. An overview on Ebola virus disease (EVD) or Ebola hemorrhagic fever (EHF). *International Journal of Allied Medical Sciences and Clinical Research*. 2014; 2:269-278.

Swanepoel R, Lemman PA, Burt FJ, Zachariades NA, Brack L, Ksiazek TG, Rollin PE, Zaki SR, Peters CJ. Experimental inoculation of plants and animals with Ebola virus. *Emerging infectious diseases*. 1996; 2(4):321-325.

Walsh PD, Abernethy A, Bermejo M, Beyers R, Wachter P, Akou ME, Huijbregts B, Mambounga DI, Toham AK, Kilbourn AM, Lahm SA, Latour S, Maisels F, Mbina C, Mihindou Y, Obiang SN, Effa EN, Starkey MP, Telfer P, Thibault M, Tutin CE, White LJ, Wilkie DS. Catastrophic ape decline in western equatorial Africa. *Nature*. 2003; 422(6932):611-614.

Weingartl HM, Embury-Hyatt C, Nfon C, Leung A, Smith G, Kobinger G. Transmission of Ebola virus from pigs to non-human primates. *Science reports*. 2012; 811:1-4.