

Ebolavirusinfectie: transmissierisico in gezondheidszorg en indicaties voor postexpositieprofylaxe

Assessment of the risk of Ebola virus transmission in healthcare and indications for post exposure prophylaxis

Dr. A.M. Vollaard¹, dr. J. van Kampen², dr. M. Koopmans³, dr. J. van Dissel¹

Samenvatting

De ernstige ebola-epidemie in West-Afrika heeft initieel ook veel ziektegevallen veroorzaakt onder gezondheidszorgwerkers, maar door strikte naleving van hygiëne- en isolatieprotocollen, en intensieve 'contact tracing' werd uiteindelijk een grote afname van infecties bereikt. Bij een aantal ziektegevallen is sequentieel getest op aanwezigheid van ebolavirus waardoor er meer inzicht is verkregen in duur van excretie van ebolavirus in verschillende lichaamsvloeistoffen. Er is nog onvoldoende inzicht hoe risicovol het contact van (niet-intacte) huid of mucosa aan de verschillende lichaamsvloeistoffen van patiënten is, en of dat een indicatie zou zijn voor postexpositieprofylaxe met experimentele antivirale middelen. In elk geval blijkt uit vorige epidemieën dat prikaccidenten zeer hoog risico-accidenten zijn en voor postexpositieprofylaxe in aanmerking komen. Over de experimentele middelen is echter nog weinig bekend wat betreft de antivirale activiteit bij de mens in de aanbevolen dosering en niet van elk middel is bekend of het veilig is, zodat het gebruik ervan als postexpositieprofylaxe in gezonde personen verdedigbaar zou zijn. Dit artikel vat de huidige inzichten in transmissierisico en de duur van excretie samen en vermeldt de huidige opties voor behandeling en eventueel voor postexpositieprofylaxe. Tenslotte worden aanbevelingen gegeven voor postexpositieprofylaxe voor gezondheidswerkers die blootgesteld zijn aan ebolavirus.

(Tijdschr Infect 2016;11(1):3-13)

Deze tekst zal ook worden gepubliceerd op de RIVM-website: *LCI richtlijn filovirussen*

Summary

The Ebola epidemic in West Africa initially also affected hundreds of health care workers, but with the strict implementation of hygienic measures, isolation of ill patients and intensive contact tracing the number of infections dropped. Insight has been gained in the duration of excretion of Ebola virus in various bodily fluids by sequentially testing infected patients. In earlier outbreaks, needle stick injuries have been identified as high risk exposure to Ebola virus. However, the risk of transmission by contact of skin or mucosa with the other bodily fluids of an index patient is sparsely documented and measurements of infectious virus are only infrequently performed. Documentation of effectivity and safety of new experimental medication against Ebola virus disease is limited. The administration of these experimental antiviral agents in case of post exposure prophylaxis in healthcare workers is explored in the current article taking into account the type of bodily fluid, the level of exposure and stage of disease of the index patient.

¹internist-infectioloog, afdeling Infectieziekten, Leids Universitair Centrum Leiden, ²AIOS Medische Microbiologie/Virologie, afdeling Virologie, Erasmus Medisch Centrum, Rotterdam, ³viroloog, afdeling Virologie, Erasmus Medisch Centrum, Rotterdam.

Correspondentie graag richten aan: dr. A.M. Vollaard, afdeling Infectieziekten, Leids Universitair Medisch Centrum, Albinusdreef 2, 2333 ZA Leiden, tel 071-5262613. a.m.vollaard@lumc.nl.

Belangenconflict/financiële ondersteuning: geen gemeld.

Trefwoorden: ebolavirusinfectie, gezondheidszorg-gerelateerde infecties, postexpositieprofylaxe (PEP), therapie, transmissie.

Keywords: Ebola virus disease, healthcare-related infections, post exposure prophylaxis (PEP), therapy, transmission.

Ontvangen 16 juni 2015, geaccepteerd 13 november 2015.

Inleiding

De ernstige epidemie van ebolavirusinfectie ('Ebola virus disease', EVD) in West-Afrika van 2014-2015 is gekenmerkt door een hoge mortaliteit van gemiddeld 50%.¹ De cijfers van de Wereldgezondheidsraad (World Health Organization, WHO) op moment van publicatie (januari 2016) zijn meer dan 28.000 infecties en ruim 11.000 overleden patiënten. De epidemie had een catastrofale impact op de gezondheidszorg in deze landen. De standaardzorg inclusief de vaccinatie tegen en behandeling van endemische infectieziekten en moeder- en kindzorg is tot stilstand gekomen. Daarnaast werd een groot aantal lokale gezondheidswerkers geïnfecteerd, bijna 900, waarvan er 500 zijn overleden.¹

Van de duizenden internationale gezondheidswerkers die werkzaam waren in de regio tijdens deze epidemie zijn er in totaal dertien personen geïnfecteerd geraakt en geëvacueerd naar Europa, waarvan er drie zijn overleden. Van de acht medische evacuatie naar de Verenigde Staten is één patiënt overleden. Ook zijn er 25 personen na expositie gerepatrieerd naar Europa vanuit de drie aangedane landen. Verder zijn er twee gezondheidswerkers in Mali, elf in Nigeria, één in Spanje, en twee in de Verenigde Staten geïnfecteerd geraakt tijdens zorg voor EVD/patiënten in die landen zelf.

Bescherming van gezondheidswerkers berust momenteel op persoonlijke beschermingsmaatregelen, die vanwege de striktheid als erg belastend worden ervaren. De mogelijkheid van vaccineren wordt gezien als een belangrijke manier om (toekomstige) uitbraken in te dammen. Op dit moment is er nog geen bewezen effectief vaccin tegen ebola, maar er zijn klinische studies gaande met kandidaat/vaccins die fase I-onderzoeken doorlopen hebben. Het rVSV-ZEBOV vaccin (zie onder) wordt momenteel in Sierra Leone toegediend aan gezondheidswerkers door een onderzoeksgroep onder leiding van het Amerikaanse Center for Disease Control (CDC) in het kader van het niet-geblindeerde STRIVE-onderzoek met twee armen: directe toediening van het vaccin bij inclusie en toediening zes maanden na inclusie.² In Guinee is met dit vaccin in april 2015 een onderzoek gestart bij frontlinie werkers, dus onder andere artsen, verpleegkundigen, begrafenis- en laboratoriummedewerkers onder de paraplu van de WHO, Artsen zonder Grenzen (Médecins sans Frontières, MSF) en het Noorse Public Health-instituut. Naast vaccins blijft het noodzakelijk therapeutische opties te ontwikkelen voor behandeling van symptomatische infectie en ook voor postexpositieprofylaxe (PEP), aangezien de breedte van bescherming door vaccins nog onbekend is en filovirussen divers zijn.

In dit artikel wordt een overzicht gegeven van transmissiekarakteristieken van ebolavirus, risico's voor transmissie in de 'community' en in de zorgsector en van mogelijke therapeutische opties voor PEP inclusief aanbevelingen.

Ziekteverschijnselen

In een aantal recente overzichtsartikelen is de klinische presentatie van patiënten in West-Afrika gedocumenteerd.³⁻⁵ Behalve koorts en malaise als zeer frequente symptomen, treden bij meer dan 50% van patiënten gastro-intestinale klachten van diarree of braken op. Het profuse vochtverlies door de ernstige diarree kan leiden tot hypovolemische shock en elektrolytenverlies met geassocieerde ritmestoornissen. Verder kan door de darmschade en secundaire bacteriële translocatie een gramnegatieve sepsis ontstaan, waardoor antibiotische therapie in dat stadium essentieel is.⁶ Door de initiële shock en secundaire complicaties is de mortaliteit hoog, vooral in de West-Afrikaanse landen vanwege de beperkte mogelijkheden voor diagnostiek en behandeling.^{3,4}

Het is niet duidelijk in hoeverre asymptomatische infecties voorkomen. Bij een serologisch onderzoek in Gabon tussen 2005-08 werd een hoge IgG-seroprevalentie van 15% aangetoond bij de rurale bevolking, zonder dat er ernstige individuele ziektegevallen of lokale uitbraken in die periode opgemerkt waren.⁷ Ook werden bij gezonde huishoudcontacten van indexcases bij een uitbraak in Gabon in 1996 EBOV RNA in mononucleaire cellen uit perifere bloed (PBMC) en IgG-antistoffen aangetoond bij 11 van deze 24 contacten.⁸ Filovirus-species verschillen onderling echter in ernst en voor de huidige uitbraak zijn dit type gegevens nog niet voorhanden.

Ebolavirus kenmerken

Ebolavirussen zijn RNA-virussen met een envelop en behoren tot de familie van *Filoviridae*. De vijf verschillende species (Zaire-, Sudan-, Tai Forest-, Reston- en Bundibugyo-ebolavirus) verschillen in hun geografisch spreidingsgebied en klinische impact. De huidige epidemie wordt veroorzaakt door een Zaire-ebolavirus, dat de naam Makona heeft gekregen. Filovirussen komen voor bij vleermuizen, die als meest waarschijnlijk reservoir beschouwd worden. Ziekte wordt gezien bij mensen en bij dieren die als bron voor infectie van mensen gezien worden, zoals gorilla's, chimpansees, duikers (bosantilopen), en varkens (Reston-ebolavirus). Een studie vond serologische aanwijzingen voor infectie van honden, maar dit is niet bevestigd.⁹

Tabel 1. Ebolavirusdetectie met PCR en maximaal aantal dagen van positieve monsters na start symptomen.

Lichaamsvloeistof	Acute fase van ziekte: aantal ontdekt/aantal getest (%)	Convalescente fase van ziekte: aantal ontdekt/aantal getest (%)	Laatste dag waarop detectie plaatsvond na begin van symptomen	Nieuwe inzichten door West-Afrikaanse epidemie
Bloed				EBOV RNA tot 37 dagen positief ³²
Huid	1/8 (13%)	0/4 (0%)	6	zweet bevat tot 40 dagen EBOV RNA ⁶
Speeksel	8/12 (67%)	0/4 (0%)	8	nog niet gepubliceerd
Urine	0/7 (0%)	0/4 (0%)	23	langdurige uitscheiding tot dag 31 ook nog bij negatieve PCR in bloed, waarbij tot dag 26 kweek positiviteit ⁶
Braaksel				EBOV RNA dag 17 negatief ³³
Ontlasting	2/4 (50%)	nb	29	EBOV RNA dag 17 negatief ³³
Intraoculair vocht				PCR en kweek nog positief op week 14 ²¹
Moeder-melk	1/1 (100%)	1/1 (100%)	15	nog niet gepubliceerd
Semen	nb	1/2 (50%)	101	PCR positief tot dag 284 na start symptomen ³¹ verdenking seksuele transmissie op dag 179 na begin ziekte door serologisch positieve index patiënt ^{22,34}
Vaginale vloeistof	nb	nb	33	nog niet gepubliceerd

nb = niet bepaald tijdens uitbraak in Gulu, Uganda
Aangepast schema (origineel²⁷)

Sequensen van de virale isolaten tijdens de West-Afrikaanse epidemie toont aan dat er inmiddels een flinke diversiteit is ontstaan door mutaties in het genoom van het virus, maar of dat consequenties heeft voor de virulentie, overleving of effectiviteit van de beschikbare experimentele vaccins en therapeutica bij deze uitbraak of bij een volgende uitbraak, is onbekend.¹⁰ Het virale genoom codeert voor zeven structurele eiwitten: nucleoproteïne (NP), glycoproteïne (GP), RNA-afhankelijk RNA-polymerase (L), VP24, VP30, VP35, VP40 en drie niet-structurele eiwitten die worden uitgescheiden door geïnfecteerde cellen (delta-peptide, sGP en ssGP). De infectieuze dosis is waarschijnlijk laag, mogelijk minder dan tien virale deeltjes.¹¹ Experimentele infecties van apen hanteren een infectie inoculum van 1000 PFU, wat gekozen is als standaard dosis omdat dan 100% in de controlearm overlijdt.

Na de incubatietijd van 2-21 dagen is er exponentiële toename van viraal RNA bij patiënten, maar in de eerste twee dagen van ziekteverschijnselen is EBOV soms nog niet detecteerbaar in bloed met PCR.¹² In de dagen van symptomatische infectie zijn virale loads van meer dan 100 miljoen kopieën/ml beschreven. Ebola RNA load is gemiddeld honderd keer hoger bij patiënten die overlijden, dan bij de patiënten die de infectie overleven.¹² Ook tijdens de huidige epidemie bleek dat hoge virale load geassocieerd is met hogere mortaliteit: beneden 10^5 kopieën/ml of boven 10^6 , respectievelijk 33% en 94%.⁴ Na dag 10 van ziekte daalt de virale load bij de patiënten die herstellen, maar blijft virus detecteerbaar in bloed, urine, zweet en semen (zie *Tabel 1*). Bij patiënten die overlijden vindt de virale load daling niet of slechts in geringe mate plaats, en is er ook in de dagen na overlijden nog altijd een zeer hoog aantal virusdeeltjes aanwezig,

waardoor door de lokale begrafenisrituelen extra risico werd gelopen in West-Afrika. Als overweldigend bewijs hiervoor geldt bijvoorbeeld de begrafenis van een traditionele genezer in Sierra Leone waarbij naar schatting 20.000 personen contact hadden met de overledene en 300 patiënten geïnfecteerd zijn geraakt.¹³ Bij apen is tot zeven dagen na overlijden door experimentele EBOV-infectie nog infectieus virus aangetoond in bloed en tot drie dagen op de huid, terwijl viraal RNA middels PCR tot wel tien weken kon worden aangetoond.¹⁴

Transmissie

Ebolavirustransmissie wordt sterk bepaald door de aard en mate van contact. Onder goede hygiënische omstandigheden is het basis reproductiecijfer (R₀) van EVD lager dan 1. Tijdens uitbraken is het effectieve reproductiecijfer R(e) aanzienlijk hoger: tijdens uitbraken in Congo (1995) en Oeganda (2000) werd de R(e) geschat op 1,3-2,7. Een berekening van R₀ tijdens de beginfase van de huidige epidemie resulteerde in een vergelijkbaar getal: 1,51-2,53.¹⁵ Het aantal individuele passages bij mens-op-mens transmissie, ofwel het aantal gastheren dat een individueel virus sequentieel zou infecteren, is 4-15 bij EVD tijdens de huidige massale epidemie, waarbij de aanname is dat de verspreiding in de West-Afrikaanse landen na een initiële 'spillover' vanuit een dierreservoir alleen nog mens-op-mens transmissie betrof.¹⁶⁻¹⁸ Deze aanname werd bevestigd door sequentie-analyse. Het is onbekend of de grote en toenemende diversiteit van ebolavirussen door mutaties, die ontstaan zijn tijdens de opeenvolgende transmissieketens, gevolgen voor de R₀ heeft. Dit zou kunnen als bijvoorbeeld het virus overdraagbaar via druppels of aerosolen zou worden of als de virale load bij geïnfecteerde patiënten consistent hoger wordt.

Dierexperimenteel onderzoek toont dat infectie mogelijk is via orale, conjunctivale, respiratoire, intramusculaire, intraperitoneale en submucosale toediening.¹⁹ EBOV kan worden gedetecteerd in bloed, urine, braaksel, zweet, faeces, borstmelk, sperma, vaginale secreta, speeksel, conjunctiva en oogvocht. In de omgeving van patiënten kan virus voorkomen op non-steriele oppervlakten en voorwerpen (fomites), maar de bijdrage van elk van deze bronnen aan de transmissie van het virus is onbekend en naar verwachting erg verschillend. Bovendien wordt in de praktijk de diagnose EBOV via polymerasekettingreactie ('polymerase chain reaction', PCR) gesteld, waarbij de vraag is of een positief PCR-sigitaal ook betekent dat er nog vitaal virus aanwezig is of slechts avirulente virusfragmenten. Verificatie hiervan en het relateren van kwantitatieve PCR-uitslagen met aantallen infectieuze

virale deeltjes vereisen hoog gespecialiseerde BSL-4-laboratoria, vanwege het infectierisico bij de kweek van deze potentieel letale virussen. Van deze BSL-4-laboratoria zijn er maar een twintigtal in de wereld ver buiten de endemische gebieden.

Beschrijving van transmissie tijdens uitbraken buiten het ziekenhuis toont aan dat direct contact met index cases noodzakelijk is, waarbij vooral lichaamsvloeistoffen als grootste risicofactor werden geïdentificeerd. Voor transmissie wordt injectie of direct contact van mucosa of beschadigde huid met virushoudend materiaal als noodzakelijk gezien. De meest risicovolle periode voor transmissie hangt samen met ziekte duur, de ernst van de ziekte en de aard en intensiteit van het contact. Ook tijdens de convalescente periode is virus gekweekt uit urine, oogvocht, borstmelk, en semen.²⁰⁻²² Bij de Kikwit-uitbraak in 1995 leek er heteroanamnestisch bij enkele gevallen ook de mogelijkheid van transmissie door huidcontact met patiënten tijdens hun asymptomatische initiële fase van ziekte. Mogelijk was er zelfs transmissie zonder huidcontact of blootstelling aan lichaamsvloeistoffen.²³ Als deze bevindingen inderdaad bevestigd zouden worden, zou transmissie via fomites of via druppels of aerosolen een mogelijkheid zijn. De betrouwbaarheid van dergelijke gegevens tijdens uitbraakonderzoek wordt echter betwijfeld.

De rol van fomites is bij goede hygiëne waarschijnlijk beperkt. Bij onderzoek van omgevingsmonsters in een ziekenhuis met een strikt schoonmaak- en desinfectieregime waren slechts 2 van 33 monsters die zichtbaar gedroogd bloed bevatten PCR-positief.²² EBOV kan enkele dagen tot weken overleven buiten het lichaam, vooral in bloed-, braaksel- of faecesresten.²⁴⁻²⁶ Of dit van belang is buiten het ziekenhuis, bijvoorbeeld in geval van contact met kleding van zieke of overleden patiënten, is nog onbekend maar moet als mogelijkheid gezien worden. Bij een gerepatrieerde epidemioloog naar Duitsland werd geopperd dat deze mogelijk geïnfecteerd raakte doordat hij het toilet deelde met een collega tot drie dagen voor diens overlijden ten gevolge van EVD.⁶ Ontlasting van EVD-patiënten kan hoge virale loads bevatten.

Er wordt aangenomen dat EBOV onder normale omstandigheden zich niet via de lucht verspreidt. Dit wordt ondersteund door de epidemiologische bevindingen en vormt ook de basis voor de bestrijding. EBOV kan wel in artificieel geproduceerde aerosolen overleven en bij dierproeven is experimentele transmissie via aerosolen, leidend tot ebolapneumonie, beschreven.^{16,19,25} De theoretische mogelijkheid dat bij aerosol-genererende procedures, zoals intubatie of manuele ventilatie, virus in

aerosolen of kleine druppels naar gezondheidswerkers wordt overgedragen en dan via infectie van mucosa of longcellen EVD veroorzaakt, heeft uit voorzorg geleid tot gebruik van adequate protectie van luchtwegen. Standaard zijn ogen beschermd tegen druppels of spat-incidenten, dus niet alleen bij aerosol-genererende procedures.

Ebolavirus in lichaamsvloeistoffen

Door het inrichten van EVD-behandelcentra en diagnostische centra kon beter worden gemonitord bij patiënten en is meer inzicht gekomen in de virale kinetiek in de verschillende lichaamsvloeistoffen tijdens infectie en in de convalescente fase. Dat gold in nog sterkere mate bij de buitenlandse artsen en verpleegkundigen die in Europese en Amerikaanse ziekenhuizen waren opgenomen, alhoewel meerdere patiënten daarbij experimentele therapieën kregen toegediend, zodat de gerapporteerde duur van excretie wellicht bekort werd. Op basis van alle beschikbare literatuur kan EBOV RNA wekenlang aangetoond worden in zweet, bloed, sperma, vaginale vloeistof, urine, ontlasting, conjunctivaal vocht, braaksel, moedermelk, speeksel en op de huid.^{12,20,27-31} In semen en oogvocht is tot respectievelijk ruim zes maanden en drie maanden infectieus virus aangetoond. PCR-sigitaal in semen is tot 284 dagen na start symptomen positief gebleken.³¹ De gegevens zijn echter nog steeds beperkt en moeten dus als indicatie gezien worden.

Infectie van gezondheidswerkers

Bijna 900 lokale artsen, verpleegkundigen, laboranten, public health functionarissen en begrafeniswerkers zijn in West-Afrika geïnfecteerd geraakt in en buiten het ziekenhuis, in het ziekenhuis vooral door ontbrekende of falende hygiëne maatregelen. De eerdere ziekenhuisgebonden epidemieën en prikaccidenten in laboratoria toonden het risico van parenterale transmissie via niet-steriele naalden.^{35,36} Prikaccidenten bij patiëntenzorg zijn dus hoog risico incidenten, maar EBOV-infectie is bij de beschrijving van twee recente cases niet aangetoond.^{36,37} Evenmin was dat het geval bij vier andere prikaccidenten die zijn gemeld in de media bij twee Britse militairen in Sierra Leone, bij een Koreaanse arts die naar Duitsland werd gerepatrieerd en bij een gerepatrieerde Amerikaanse arts, waarbij geen informatie over het type naald beschikbaar is. Tenslotte is recent gepubliceerd over acht gezondheidswerkers, waarbij vier ervan in verband met hoog risico blootstelling PEP kregen toegediend, waarbij geen EBOV-viremie kon worden vastgesteld na blootstelling en tijdens PEP.³⁸

Serologische data van deze personen ontbreken, dus of de blootstelling ook zou resulteren in een infectie is onbekend, net zoals de bijdrage van PEP aan het ontbreken van viremie.

Daarnaast is contact met andere lichaamsvloeistoffen een ander risico in de gezondheidszorg, vooral bij zieke patiënten met hoge virale loads in meerdere lichaamsvloeistoffen, zoals diarree, braaksel, urine en zweet. Optimale protectie van gezondheidswerkers en controle hiervan zijn daarbij van belang, omdat door de strikte naleving het aantal infecties onder gezondheidswerkers drastisch verminderde. Transmissie is gedocumenteerd door het wrijven van besmette handschoenen in ogen.³⁹ Ook is op de gezichtsmaskers van gezondheidswerkers viraal RNA aangetoond, zodat helder wordt waarom vooral het uitkleden ('doffing') een risico vormt.¹⁶ De beschrijving van recente infecties van buitenlandse gezondheidswerkers in West-Afrika of de secundaire gevallen in Spanje en de Verenigde Staten biedt echter te weinig inzicht in het vehikel voor transmissie dus welke lichaamsvloeistof aangeraakt is en in welke fase van infectie bij de indexcases. Bij al de cases wordt gemeld dat persoonlijke protectie bij patiëntenzorg adequaat zou zijn.⁴⁰⁻⁴³ Beperkte laboratoriumfaciliteiten en besmettingsrisico voor onderzoekers bij herhaald samplen van EVD-patiënten zijn daarnaast barrières voor meer en uitgebreidere diagnostiek. Een eventuele indicatiestelling voor PEP kan niet uit deze cases gedistilleerd worden.

Medicamenteuze opties voor PEP

Een aantal recente overzichten van de experimentele therapeutische opties bij EVD, (onder andere in dit tijdschrift van Wilting et al.), geeft inzicht in het dilemma dat nu heerst bij de afweging van keuze voor antivirale therapie.⁴⁴⁻⁴⁷ Enerzijds kan gebruik worden gemaakt van experimentele medicijnen die wel werkzaam blijken in apen maar waarvoor weinig veiligheidsdata bij de mens beschikbaar zijn, zoals TKM-100802, Zmapp en rVSV-ZEBOV. Anderzijds zijn er middelen die al wel bij grotere patiëntengroepen zijn getest op veiligheid in het kader van onderzoek naar behandeling van andere (infectie)ziekten, maar waarbij bewijs voor antivirale activiteit tegen EBOV alleen stoelt op in vitro data of minimale data bij dieren, zoals favipiravir, brincidifovir en amiodaron. Meer duidelijkheid over het therapeutisch effect en bijwerkingenprofiel van een aantal van deze middelen bij bevestigde EVD komt beschikbaar in de nabije toekomst. Beperkte beschikbaarheid van middelen is een bijkomende beperking voor het gebruik ervan als PEP, vooral als daardoor tekorten zouden ontstaan voor

behandeling van zieke EVD patiënten.

Als volgend dilemma rijst op in hoeverre deze experimentele therapeutische opties ook veilig en effectief – en daarmee verantwoord en verdedigbaar – zijn als PEP. Voor een aantal van deze middelen zijn er consequenties voor de personen die PEP krijgen, waardoor vooraf informed consent vereist is. Als er door vaccinatie met andere virussen (rVSV ZEBOV) of cytokine release na medicatie (TKM-100802) koorts ontstaat, is niet meer uit te maken of het toch EVD betreft of een bijwerking van de experimentele therapie. In dat geval is er een duidelijke indicatie tot isolatie van de patiënt in verband met mogelijke EVD totdat die diagnose is uitgesloten, wat een logistieke uitdaging betreft bij eventueel transport en bij opname.

rVSV-ZEBOV, eenmalig vaccin

rVSV-ZEBOV is een levend verzwakt replicatie-competent vesiculair stomatitis virus (VSV) waarin het gen voor ebola glycoproteïne (EBOV-GP) is geïntegreerd. Bij de mens kan de eenmalige toediening van deze virusvector een griepachtig beeld veroorzaken: 35% van de ontvangende 150 vrijwilligers in een fase 1-onderzoek kreeg koorts.⁴⁸ In Europa komt VSV onder de veestapel niet voor en VSV is een aangifteplichtige veterinaire ziekte in Nederland. Bij initiële presentatie van VSV kan nog geen onderscheid gemaakt worden tussen VSV en het veel virulenter mond- en klauwzeervirus. Bij de verdenking op infectie met het laatste virus kunnen veetransportverboden en bij bevestiging zelfs ruiming volgen, dus introductie van een nieuw virus wordt in Nederland zoveel mogelijk voorkomen. Mede daarom is er geen consensus in Nederland over mogelijke toediening van rVSV als vaccin of als PEP. Na toediening aan 150 vrijwilligers kon bij 30 gesamplede personen geen VSV in speeksel of urine worden gedetecteerd, maar wel in het bloed tot vier dagen na toediening.⁴⁸ Ook bleek virale verspreiding tot drie weken na vaccinatie naar huid of gewrichten mogelijk. Toediening van dit vaccin als PEP zou daarom altijd leiden tot bronisolatie van de patiënt in een ziekenhuis: enerzijds omdat de aanwezige data bij de mens niet uitsluiten dat verspreiding naar omgeving en veestapel mogelijk is, anderzijds omdat een aanzienlijk deel van de ontvangers koorts ontwikkelt, waardoor EVD moet worden uitgesloten. Het bewijs voor effectiviteit is verkregen in apenonderzoek korte tijd na experimentele blootstelling aan EBOV bij slechts enkele apen: 30 minuten na blootstelling aan een anderszins letale dosis kregen acht apen een vaccinatie met rVSV-EBOV, waardoor slechts vier van de acht apen na negen tot achttien dagen dood gingen.⁴⁹

Extrapolatie naar de mens in latere stadia van infectie is hypothetisch.

Het mechanisme hoe dit vaccin als PEP zou werken is onbekend, maar meerdere verklaringen worden gegeven: virale interferentie, stimulering van de ‘innate’ immunrespons, receptorblokkade door het VSV-geproduceerde ebola glycoproteïne of een combinatie van deze drie componenten.³⁷ Het ontwikkelen van adaptieve immuniteit middels IgM-antilichamen duurt meer dan een week, dus deze bijdrage is beperkt in de vroege fase van infectie.

Bij een goed gedocumenteerd prikaccident in een laboratorium in Duitsland werden mogelijkwijs maximaal $2,8 \times 10^5$ kopieën in de 2 uL die nog in de naald aanwezig waren bij de laborant geïnoculeerd.³⁶ Deze persoon kreeg daarna preventief het rVSV-ZEBOV-vaccin 48 uur na het accident, maar is niet ziek geworden van ebola-infectie en evenmin waren er aanwijzingen voor EBOV-viremie of EBOV-gerelateerde serologische respons. Een vergelijkbare casus is recent beschreven, waarbij een arts met een schone naald door gecontamineerde handschoenen prikte en 43 uur na dit accident rVSV-ZEBOV als PEP toegediend kreeg.³⁷ Twaalf uur na vaccinatie ontwikkelde hij koorts en was pas op dag 7 weer symptoomvrij, wat te verklaren was door de viremie door het VSV-virus, die tot dag 4 in bloed detecteerbaar was. Pas op dag 17 was er IgM EBOV-GP detecteerbaar en er was een sterke stimulatie van het ‘innate’ immuunsysteem na vaccinatie. Verder werd rVSV-ZEBOV aan minstens vier anderen toegediend als PEP zonder inzicht in indicatie of beloop.

Beschikbaarheid zou nu beter moeten zijn dan vorig jaar, vooral omdat er duizenden doses zijn geproduceerd voor de onderzoeken in West-Afrika naar het effect als pre-expositie vaccin.

Favipiravir: dagelijkse orale therapie gedurende tien dagen

Deze nucleotide analoog remt viraal RNA-afhankelijk RNA-polymerase van meerdere RNA-virussen en favipiravir wordt op dit moment in een fase 3-onderzoek voor de behandeling van influenza onderzocht in de Verenigde Staten. Een hogere dosis dan in die studie wordt in een single arm fase 2-onderzoek in Guinee gebruikt voor behandeling van EVD (JIKI-studie), omdat de IC50 van EBOV hoger ligt dan die van influenza.⁵⁰ De dosering die gebruikt wordt is tweemaal 2400 mg en eenmaal 1200 mg à acht uur op dag 1, gevolgd door 2 dd 1200 mg op dag 2-10. Deze dosering is berekend door de plasmaconcentraties die nodig zijn voor succesvolle behandeling van EBOV-geïnfecteerde

muizen te extrapoleren via een farmacokinetisch model naar mensen.⁵¹ Over de veiligheid van deze orale behandeling gedurende tien dagen in deze dosering is weinig bekend. De eerste onderzoeksgegevens van favipiravir in Guinee tonen aan dat het mogelijk een mortaliteitsreductie geeft in vergelijking met historische controles als de Ebola viremie niet zeer hoog is, dat wil zeggen een CT waarde meer dan 20 bij PCR-bepaling. Dit zou een indicatie zou kunnen zijn voor een therapeutisch effect, ook gezien de snel dalende virale loads in de lage viremiegroep, wat echter ook het natuurlijk beloop bij infectie zou kunnen zijn.⁵⁰ Favipiravir is gecontra-indiceerd bij zwangeren in verband met mogelijke teratogene effecten. Favipiravir is beschikbaar via de firma in Europa in geval van nood, maar opslag van voorraden is nog niet mogelijk. Op basis van deze data is favipiravir gebruikt bij vier gezondheidswerkers in Sierra Leone, waarbij maximaal tien uur na blootstelling al gestart werd met bovenstaande dosering.³⁸ Bij twee van deze personen werden ook nog monoklonale antilichamen toegediend. Geen van deze personen kreeg een viremie, symptomen of ernstige bijwerkingen. Onbekend is of de prikaccidenten toch geen infectie veroorzaakten of dat favipiravir effectief was in de preventie van ziekteprogressie.

Brincidovir: orale therapie in vijf doses gedurende veertien dagen

Brincidofovir is een nucleotide analoog en een lipide conjugaat van cidofovir, maar zonder de daarvan bekende nefrotoxiciteit. Brincidofovir heeft breed spectrum activiteit tegen DNA-virussen waaronder adenovirus en cytomegalovirus (CMV). Het middel lijkt in vitro actief tegen EBOV, maar data zijn niet gepubliceerd. Muizenonderzoek toonde geen activiteit tegen EBOV-infectie, apenonderzoek kan niet met dit middel worden verricht vanwege specifieke farmacokinetische problemen daarbij, caviaonderzoek moet nog worden verricht en een groter onderzoek bij de mens in West-Afrika is mogelijk door deze ontbrekende werkzaamheidsdata niet van start gegaan.⁵² Hoewel het veiligheidsprofiel redelijk goed bekend is (leverenzymstijgingen, darmklachten) en drie van de vier patiënten die werden behandeld met een combinatie van brincidofovir en convalescent plasma herstelden, is er geen bewijs voor effectiviteit van brincidofovir voor EVD-behandeling en/of PEP.⁴¹

Passieve immunotherapie, monoklonale antistoffen en convalescent plasma

Toediening van immuunglobulines als PEP, net als na

blootstelling aan hepatitis B of rabiës, lijkt een rationele benadering, omdat toename van humorale immuniteit en antilichaamtiteren geassocieerd zijn met overleving.^{53,54} Hyperimmuun geitenserum is in het verleden toegepast bij 4 mensen na blootstelling in laboratoria.⁵⁵ Hyperimmuun paardenserum, dat door de firma Fab'entech wordt ontwikkeld, bevindt zich nog in de *in vitro* fase van onderzoek op dit moment.

Als monoklonale antilichamen beschikbaar zijn na het opschalen van de productie begin 2015, is intraveneuze toediening daarvan een aannemelijker optie als PEP, omdat het therapeutisch concept een bekende praktijk is bij meerdere aandoeningen, zoals inflammatoire aandoeningen. Als behandeling is Zmapp, de combinatie van drie monoklonale antilichamen gericht tegen EBOV-GP die in tabaksplanten wordt geproduceerd, effectief in drie doses tot zelfs vijf dagen na experimentele infectie bij apen en is het daarom in *compassionate use* bij meerdere symptomatische EVD-patiënten toegepast, waarbij twee van de acht alsnog overleden.⁵⁶ De Chinese variant hiervan die in hamstercellen wordt geproduceerd, MIL77, is ook (succesvol) gebruikt in 'compassionate use', maar verdere details ontbreken. Veiligheid van deze specifieke antilichamen is nog niet bekend. Als PEP zijn beiden toegediend in combinatie met favipiravir aan twee gezondheidswerkers na een prikaccident in twee doses van 50 mg/kg, waarbij de tweede dosis drie dagen na de eerste werd toegediend.³⁸ Na de blootstelling en na PEP trad er geen EBOV-infectie op.

Gebruik van convalescent plasma verkregen uit EBOV RNA vrije donoren die EVD overleefden, is beschreven in meerdere casusbeschrijvingen en wordt onderzocht in Guinee. Beschikbaarheid in Europa is een beperkende factor en verder zijn er ethische bezwaren: de schaarste ervan zal leiden tot het (experimenteel) gebruik ervan bij zieke patiënten in plaats van bij gezonde PEP-kandidaten.

Antisense therapie: dagelijks intraveneuze therapie gedurende zeven dagen

TKM-100802 blokkeert als 'small interference' RNA (siRNA) door selectieve blokkade de productie van de virale eiwitten L-polymerase en VP35 en is werkzaam in apen tot maximaal 72 uur na blootstelling.⁵⁷ Het is in 'compassionate use' als behandeling van mensen gebruikt.³¹ Er zijn echter een aantal bezwaren voor het gebruik hiervan als PEP: deze vorm van farmacotherapie is nog zeer experimenteel en veiligheidsrisico's door potentiële blokkade van menselijk RNA zijn nog onvoldoende in kaart gebracht; behandeling is dagelijks intraveneus gedurende zeven dagen. Ook blijkt toedie-

ning van siRNA soms te leiden tot cytokine release en koorts, waardoor isolatie nodig is van de ontvanger ervan, omdat dan eerst EVD moet worden uitgesloten. De beschikbaarheid is zeer beperkt. AVI-7537, een andere remmer van translatie van viraal mRNA als antisense oligomeer, is wel bij een kleine groep mensen onderzocht op veiligheid, maar ontwikkeling hiervan staat stil en beschikbaarheid is onbekend.⁵⁸

Overige therapie

Andere antivirale middelen, zoals BCX4430, een nucleoside analoog die polymerase remt, zijn nog niet bij mensen onderzocht op veiligheid, dus ontbreekt zowel een goede onderbouwing voor effectiviteit als veiligheid.⁴⁷ Het anti-aritmicum amiodaron bezit in vitro activiteit tegen EBOV en er loopt een onderzoek in Sierra Leone (EASE-studie) met de geregistreerde cardiologische dosering: 20 mg/kg/dag IV gedurende drie dagen, waarna 3 dd 200 mg per os tot dag 10. De beschreven patiënt die naar Duitsland was gerepatriëerd was hiermee al begonnen als behandeling, maar de onderzoeksresultaten van het EASE-onderzoek in Sierra Leone moeten eerst gepubliceerd worden, voordat dit schema als PEP zou kunnen worden overwogen.³³ Datzelfde geldt voor clomifeen, een oestrogenreceptor-antagonist, die bij muizen effectief lijkt, maar waarvan data bij apen en mensen ontbreken als therapeutische optie bij bewezen EVD.⁵⁹

Desinfectie

Indien een gezondheidswerker onbeschermd huidcontact heeft gehad met een EVD-patiënt of indien lichaamsvloeistoffen van een EVD-patiënt in aanraking komen met de huid van een gezondheidswerker wordt aangeraden om de huid te desinfecteren met een handalcohol met tenminste een begrensd virucide werking (i.e. virucide werking tegen virussen met een envelop). Een bekend voorbeeld van een dergelijk handalcohol is Sterillium. Handalcohol met virucide werking (i.e. virucide werking tegen virussen met en zonder envelop) is ook geschikt, maar ethanol 67% is waarschijnlijk onvoldoende.²⁶ Het Robert Koch Instituut heeft een uitgebreide lijst gepubliceerd van commercieel verkrijgbare handalcohol en of de preparaten (begrensd) virucide activiteit hebben, zie <http://link.springer.com/10.1007/s00103-013-1863-6>, maar er is weinig literatuur specifiek voor EBOV – een klasse 4 agens - waarbij hogere eisen aan desinfectie gesteld worden. Bij zichtbare verontreiniging van de huid, wordt aangeraden om eerst de huid te wassen met water en zeep, vervolgens droog te maken en daarna de (begrensd) virucide handalcohol

toe te passen. Bij prikaccidenten wordt aangeraden om de wond eerst goed te laten bloeden. Bij spataccidenten op slijmvliezen (oog of mond) wordt aangeraden om de slijmvliezen met grote hoeveelheden water te spoelen. Het desinfecteren van besmette oppervlakten met chloor is alleen effectief met hogere concentraties en is pas effectief na een contactduur van vijf minuten, wat ook geldt voor ethanol 67%.²⁶

Conclusie en aanbevelingen

Zoals besproken zijn nog niet alle aspecten van transmissie van EBOV en dus het infectierisico in de gezondheidszorg bekend. Door het gebrek aan inzicht is indicatiestelling voor PEP nog niet duidelijk, behoudens bij prikaccidenten. Wel zijn er nu meerdere nog experimentele antivirale middelen. Gezien de hoge sterfte is gebruik van slechts theoretisch effectieve antivirale therapie in geval van ziekte verdedigbaar, mits ernstige veiligheidsrisico's bekend zijn en ondervangen kunnen worden. Dit perspectief verandert als medicatie van onbewezen effectiviteit of onvoldoende op veiligheid onderzochte medicatie wordt toegediend aan gezonde gezondheidswerkers, nadat deze blootgesteld zijn aan lichaamsvloeistoffen van geïnfecteerde patiënten. De keuze om wel of niet een experimentele behandeling te starten hangt dan mede af van de inschatting van risico op infectie, waarbij aard en intensiteit van de blootstelling van belang zijn. Door gebrek aan gegevens is dit echter een moeilijk objectieerbare inschatting. Virale infectie via intacte huid wordt minder aannemelijk geacht omdat de huid een effectieve barrière vormt, maar data bij EBOV ontbreken.

De aard van de blootstelling betreft vragen over de lichaamsvloeistoffen waarmee de gezondheidswerker contact heeft gehad. Alle lichaamsvloeistoffen kunnen EBOV RNA bevatten, maar de kwantitatieve virale load en duur van uitscheiding van infectieus virus tijdens het ziektebeloop zijn onbekend en daarmee het risico bij blootstelling. Gezien het gebrek aan gegevens, de bekende lage infectieuze dosis en de ernst van ebolainfectie, zou direct contact met lichaamsvloeistoffen van een bewezen patiënt op niet-intacte huid of mucosa een indicatie voor PEP kunnen zijn.

Daarbij speelt het stadium van infectie ook een rol, hoewel ook die moeilijk te kwantificeren is. Nog asymptomatische patiënten zullen zeer weinig risico vormen, behalve bij bloed-bloedcontact, zoals een prikaccident. Tot vier weken na start van symptomen is infectieus virus in bloed en urine aangetoond, andere lichaamsvloeistoffen zijn spaarzaam onderzocht dus data hiervan ontbreken. Ook in de convalescente fase wordt infectieus

Tabel 2. Risicoschatting per bronmateriaal, contactvorm bij gezondheidswerker en mogelijke PEP-indicatie.

Bronmateriaal van index patiënt	Intacte huid	Niet-intacte huid	Mucosa/oog	Bloed /prikaccident
Bloed	onbekend risico: desinfectie, start PEP aanbevolen tot negatieve PCR-uitslag van index patiënt verkregen kan worden	hoog risico: aanbevolen indien in eerste vier weken na start symptomen	hoog risico: aanbevolen indien in eerste vier weken na start symptomen	zeer hoog risico: aanbevolen indien in eerste vier weken na start symptomen
Faeces/diarree	onbekend risico: desinfectie*	hoog risico: aanbevolen, termijn onbekend	hoog risico: aanbevolen, termijn onbekend	**
Braaksel	onbekend risico: desinfectie*	hoog risico: aanbevolen, termijn onbekend	hoog risico: aanbevolen, termijn onbekend	**
Speeksel (o.a. intubatie)	onbekend risico:	hoog risico: overweeg, termijn onbekend	hoog risico: aanbevolen bij ontbreken PPE, termijn onbekend	**
Urine	onbekend risico: desinfectie*	hoog risico: aanbevolen indien in eerste 4 weken na start symptomen	hoog risico: aanbevolen indien in eerste 4 weken na start symptomen	**
Zweet	onbekend risico: desinfectie*	onbekend risico: overweeg, termijn onbekend	onbekend risico: overweeg, termijn onbekend	**
Sperma	onbekend risico: desinfectie*	onbekend risico: overweeg, termijn onbekend	hoog risico: overweeg, termijn onbekend	**
Contact met fomites	onbekend risico: desinfectie*	onbekend risico: onbekend, termijn onbekend	onbekend risico: onbekend, termijn onbekend	**

* Overweeg tijdelijke PEP totdat de uitslag van EBOV RNA in het bronmateriaal bekend is. Alleen bij positieve uitslag behandelduur verlengen.

** Niet aannemelijk geacht

PEP: *postexpositieprofylaxe*, PPE: *personal protective equipment*

virus uitgescheiden. Voor een optimale risicoschatting is het noodzakelijk bronmateriaal te onderzoeken op EBOV middels PCR, waarbij ook de hoeveelheid kan worden vastgesteld. Afhankelijk van de aard van het incident (zie *Tabel 2*) kan worden besloten alvast met PEP te starten voordat de uitslag bekend is. Een negatieve EBOV-RNA-uitslag in bloed kan niet worden geëxtrapoleerd naar andere lichaamsvloeistoffen. Bij een negatieve bloeduitslag worden afwegingen over continueren van PEP c.q. volledig afmaken van het voorgestelde behandelregime na expositie aan een andere lichaamsvloeistof dan bloed door bovenstaande factoren beïnvloed.

In de volgende tabel worden data samengevat en voorzichtige aanbevelingen geformuleerd, waarbij de beperkte data over excretieduur van *Tabel 1* (op pagina 5) kan worden meegenomen in de besluitvorming.

Tenslotte zal bij de afweging van PEP de keuze en beschikbaarheid van experimentele medicatie een belangrijke rol spelen. Op dit moment lijken favipiravir orale therapie en Zmapp als intraveneuze toediening met twee of drie giften de best onderbouwde opties, waarbij voor favipiravir beschikbaarheid van medicatie op dit moment waarschijnlijker lijkt dan voor Zmapp. Vertraging in het toedienen van PEP dient voorkomen te worden, maar de maximale duur van toediening na een risicocontact is onbekend. Voor Zmapp is in dierproeven tot vijf dagen na blootstelling aan EBOV overlevingswinst bereikt, voor favipiravir is dat onbekend. Een vergelijkbare termijn van vijf dagen lijkt gerechtvaardigd, omdat er ook nog bij symptomatische EVD – dus al aanwezige viremie – na het verstrijken van een minimale incubatietijd van twee dagen antivirale activiteit leek te bestaan in het eerste onderzoek in

Aanwijzingen voor de praktijk

1. Ebolavirusinfectie wordt gekenmerkt door een hoog mortaliteitscijfer.
2. Transmissie via lichaamsvloeistoffen van symptomatische patiënten in de gezondheidszorg is een hoog risico voor gezondheidswerkers.
2. De uitscheidingsduur van ebolavirus in de verschillende lichaamsvloeistoffen tijdens infectie is slecht gedocumenteerd, waarbij de relatie van een positief PCR-sigitaal en het aantal infectieuze virusdeeltjes weinig onderzocht is.
4. Meerdere experimentele antivirale middelen zijn in een vroege fase van ontwikkeling, waarbij op dit moment de polymeraseremmer favipiravir en monoklonale antilichamen Zmapp mogelijk werkzaam en veilig zijn bij de behandeling van ebola-infectie.
5. Het gebruik van bovenstaande twee middelen voor PEP zou geïndiceerd kunnen zijn bij hoog risico blootstelling in gezondheidszorg, vooral bij prikaccidenten.
6. Voor overige vormen van blootstelling moet een afweging worden gemaakt op basis van het stadium van ziekte van de indexpatiënt, de lichaamsvloeistof waarmee contact is gemaakt en de vorm van contact van de gezondheidswerker.

West-Afrika. De duur van het gebruik van deze middelen en de dosering zijn onbekend. Aannemelijk is de voorgestelde dosering en duur van behandeling bij bewezen EVD te extrapoleren naar PEP, maar of dat verkort kan worden – bijvoorbeeld in geval van ernstige bijwerkingen - is onzeker. De casusbeschrijvingen van behandelde EVD-patiënten tonen dat humorale respons zich ontwikkelt ondanks experimentele therapie, maar of dat bij PEP ook het geval is, is onbekend.

De combinatie van deze middelen is als behandeling niet onderzocht en dus kan over de werkzaamheid en veiligheid van een combinatietherapie als PEP geen uitspraak gedaan worden. De overige middelen met beperkt onderzochte effectiviteit - vaak zelfs slechts op basis van in vitro data - of te weinig inzicht in bijwerkingenprofiel zijn op dit moment niet aan te bevelen als PEP. Monitoring van EBOV-RNA, humorale respons en andere parameters, zoals nierfunctie of leverenzymen, zijn vereist.

De uiteindelijke afweging tot het toedienen van PEP en mogelijke risico's op falen of bijwerkingen zullen moeten worden overlegd met de persoon die de experimentele therapie zal ontvangen. Informed consent is daarbij vereist.

Referenties

1. <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/communicable-disease-threats-report-6-june-2015.pdf>. 2015.
2. <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/strive/qa.html>. 2015.

3. Bah EI, Lamah MC, Fletcher T, et al. Clinical presentation of patients with Ebola virus disease in Conakry, Guinea. *N Engl J Med* 2015; 372(1):40-7.
4. Schieffelin JS, Shaffer JG, Goba A, et al. Clinical illness and outcomes in patients with Ebola in Sierra Leone. *N Engl J Med* 2014;371(22):2092-100.
5. Chertow DS, Kleine C, Edwards JK, et al. Ebola virus disease in West Africa-clinical manifestations and management. *N Engl J Med* 2014;371(22):2054-7.
6. Kreuels B, Wichmann D, Emmerich P, et al. A case of severe Ebola virus infection complicated by gram-negative septicemia. *N Engl J Med* 2014;371(25):2394-401.
7. Becquart P, Wauquier N, Mahlakoiv T, et al. High prevalence of both humoral and cellular immunity to Zaire ebolavirus among rural populations in Gabon. *PLoS One* 2010;5(2):e9126.
8. Leroy EM, Baize S, Volchkov VE, et al. Human asymptomatic Ebola infection and strong inflammatory response. *Lancet* 2000;355(9222):2210-5.
9. Allela L, Boury O, Pouillot R, et al. Ebola virus antibody prevalence in dogs and human risk. *Emerg Infect Dis* 2005;11(3):385-90.
10. Tong YG, Shi WF, di L, et al. Genetic diversity and evolutionary dynamics of Ebola virus in Sierra Leone. *Nature* 2015; 524(7563):93-6.
11. Franz dR, Jahrling PB, McClain dJ, et al. Clinical recognition and management of patients exposed to biological warfare agents. *Clin Lab Med* 2001;;21(3):435-73.
12. Towner JS, Rollin PE, Bausch DG, et al. Rapid diagnosis of Ebola hemorrhagic fever by reverse transcription-PCR in an outbreak setting and assessment of patient viral load as a predictor of outcome. *J Virol* 2004;78(8):4330-41.
13. <http://who.int/csr/disease/ebola/ebola-6-months/sierra-leone/en/>. 2015.
14. Prescott J, Bushmaker T, Fischer R. Postmortem stability of ebola virus. *Emerg Infect dis* 2015;21(5):856-9.
15. Althaus CL. Estimating the Reproduction Number of Ebola Virus (EBOV) during the 2014 Outbreak in West Africa. *PLoS Curr* 2014;6.
16. Osterholm MT, Moore KA, Kelley NS, et al. Transmission of Ebola viruses: what we know and what we do not know. *MBio* 2015;6(2):e00137.

17. Mari SA, Weiss S, Nowak K, et al. Investigating the zoonotic origin of the West African Ebola epidemic. *EMBO Mol Med* 2015;7(1):17-23.
18. Gire SK, Goba A, Andersen KG, et al. Genomic surveillance elucidates Ebola virus origin and transmission during the 2014 outbreak. *Science* 2014; 345(6202):1369-72.
19. Judson S, Prescott J, Munster V. Understanding ebola virus transmission. *Viruses* 2015;7(2):511-21.
20. 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 November 15;196 Suppl 2:S142-S147.
21. Varkey JB, Shantha JG, Crozier I, et al. Persistence of Ebola Virus in Ocular Fluid during Convalescence. *N Engl J Med* 2015; 372(25):2423-7.
22. Christie A, Davies-Wayne GJ, Cordier-Lasalle T, et al. Possible sexual transmission of ebola virus - Liberia, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2015;64(17):479-81.
23. Roels TH, Bloom AS, Buffington J, et al. Ebola hemorrhagic fever, Kikwit, democratic Republic of the Congo, 1995: risk factors for patients without a reported exposure. *J Infect Dis* 1999;179 Suppl 1:S92-7.
24. Sagripanti JL, Lytle Cd. Sensitivity to ultraviolet radiation of Lassa, vaccinia, and Ebola viruses dried on surfaces. *Arch Virol* 2011;156(3):489-94.
25. Piercy TJ, Smither SJ, Steward JA. The survival of filoviruses in liquids, on solid substrates and in a dynamic aerosol. *J Appl Microbiol* 2010;109(5):1531-9.
26. Cook BW, Cutts TA, Nikiforuk AM, et al. Evaluating environmental persistence and disinfection of the Ebola virus Makona variant. *Viruses* 2015;7(4):1975-86.
27. <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/transmission/human-transmission.html>. 2015.
28. Rodriguez LL, de RA, 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 February;179 Suppl 1:S170-6.
29. 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:S28-35.
30. Richards GA, Murphy S, Jobson R, et al. Unexpected Ebola virus in a tertiary setting: clinical and epidemiologic aspects. *Crit Care Med* 2000;28(1):240-4.
31. Deen GF, Knust B, Broutet N, et al. Ebola RNA Persistence in Semen of Ebola Virus disease Survivors - Preliminary Report. *N Engl J Med* 2015; Epub ahead of print.
32. Kraft CS, Hewlett AL, Koepsell S, et al. The Use of TKM-100802 and Convalescent Plasma in 2 Patients With Ebola Virus disease in the United States. *Clin Infect Dis* 2015; 61(4):496-502.
33. Wolf T, Kann G, Becker S, et al. Severe Ebola virus disease with vascular leakage and multiorgan failure: treatment of a patient in intensive care. *Lancet* 2014; 385(9976):1428-35.
34. Mate SE, Kugelman JR, Tolbert G, et al. Molecular Evidence of Sexual Transmission of Ebola Virus. *New Engl J Med* 2015; 373(25):2448-54.
35. <http://www.cidrap.umn.edu/news-perspective/2004/05/russian-scientist-dies-ebola-after-lab-accident>. 2015.
36. Gunther S, Feldmann H, Geisbert TW, et al. Management of accidental exposure to Ebola virus in the biosafety level 4 laboratory, Hamburg, Germany. *J Infect Dis* 2011;204 Suppl 3:S785-90.
37. Lai L, Davey R, Beck A, et al. Emergency postexposure vaccination with vesicular stomatitis virus-vectored Ebola vaccine after needlestick. *JAMA* 2015; 313(12):1249-55.
38. Jacobs M, Aarons E, Bhagani S, et al. Post-exposure prophylaxis against Ebola virus disease with experimental antiviral agents: a case-series of health-care workers. *Lancet Inf Dis* 2015;15 (11):1300-4.
39. Khan AS, Tshioko FK, Heymann DL, et al. The reemergence of Ebola hemorrhagic fever, democratic Republic of the Congo, 1995. *Commission de Lutte contre les Epidemies a Kikwit. J Infect Dis* 1999;179 Suppl 1:S76-86.
40. Spencer C. Having and fighting Ebola--public health lessons from a clinician turned patient. *N Engl J Med* 2015;372(12):1089-91.
41. Liddell AM, Davey RT Jr, Mehta AK, et al. Characteristics and Clinical Management of a Cluster of 3 Patients With Ebola Virus disease, Including the First domestically Acquired Cases in the United States. *Ann Intern Med* 2015; 163(2):81-90.
42. Parra JM, Salmeron OJ, Velasco M. The first case of Ebola virus disease acquired outside Africa. *N Engl J Med* 2014;371(25):2439-40.
43. Lyon GM, Mehta AK, Varkey JB, et al. Clinical care of two patients with Ebola virus disease in the United States. *N Engl J Med* 2014;371(25):2402-9.
44. Bishop BM. Potential and emerging treatment options for Ebola virus disease. *Ann Pharmacother* 2015;49(2):196-206.
45. Wong G, Qiu X, Olinger GG. Post-exposure therapy of filovirus infections. *Trends Microbiol* 2014;22(8):456-63.
46. LCI richtlijn filovirussen Bijlage 5. Medicamenteuze behandeling van ebolavirus-infectie . 2015. http://www.rivm.nl/documenten_en_publicaties/Professioneel_Praktisch/Richtlijnen/Infectieziekten/LCI_richtlijnen/LCI_richtlijn_Virale_hemorragische_koorts_Filovirussen_ebola_marburg
47. http://www.who.int/medicines/emp Ebola_q_as/en/. 2015.
48. Agnandji ST, Huttner A, Zinser ME, et al. Phase 1 Trials of rVSV Ebola Vaccine in Africa and Europe - Preliminary Report. *N Engl J Med* 2015; Epub ahead of print.
49. Feldmann H, Jones SM, Daddario-diCaprio KM, et al. Effective post-exposure treatment of Ebola infection. *PLoS Pathog* 2007;3(1):e2.
50. Sissoko d. Abstract 103-ALB. Presented at: Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Feb. 23-26, 2015; Seattle. 2015.
51. Mentre F, Taburet AM, Guedj J, et al. dose regimen of favipiravir for Ebola virus disease. *Lancet Infect Dis* 2014; 15(2):150-1.
52. WHO. Categorization and prioritization of drugs for consideration for testing or use in patients infected with Ebola, updated 15 January 2015 . 2015 Jan 15.
53. Wong G, Richardson JS, Pillet S, et al. Immune parameters correlate with protection against ebola virus infection in rodents and nonhuman primates. *Sci Transl Med* 2012;4(158):158ra146.
54. Maruyama T, Rodriguez LL, Jahrling PB, et al. Ebola virus can be effectively neutralized by antibody produced in natural human infection. *J Virol* 1999; 73(7):6024-30.
55. Kudoyarova-Zubavichene NM, Sergeev NN, Chepurinov AA et al. Preparation and use of hyperimmune serum for prophylaxis and therapy of Ebola virus infections. *J Infect Dis* 1999;179 Suppl 1:S218-23.
56. Qiu X, Wong G, Audet J, et al. Reversion of advanced Ebola virus disease in nonhuman primates with ZMapp. *Nature* 2014;514(7520):47-53.
57. Choi JH, Croyle MA. Emerging targets and novel approaches to Ebola virus prophylaxis and treatment. *Biodrugs* 2013;27(6):565-83.
58. Warren TK, Warfield KL, Wells J, et al. Advanced antisense therapies for postexposure protection against lethal filovirus infections. *Nat Med* 2010 September;16(9):991-4.
59. Johansen LM, Brannan JM, Delos SE, et al. FDA-approved selective estrogen receptor modulators inhibit Ebola virus infection. *Sci Transl Med* 2013; 5(190):190ra79.